

ARCHIVES
D'ANATOMIE MICROSCOPIQUE
ET DE
MORPHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

EXTRAIT

ANALYSE DE L'ACTION MORPHOGÉNÉTIQUE
DES HORMONES THYROÏDIENNES
SUR LE CERVELET DU JEUNE RAT

Par JACQUES LEGRAND

(Laboratoire de Physiologie comparée,
Faculté des Sciences de Paris [Directeur : Pr A. Jost].)

11 AVR. 1967

Tome 56 — N° 3-4 — 1967

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS (VI^e)

ARCHIVES D'ANATOMIE MICROSCOPIQUE ET DE MORPHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

TOME 56

N° 3-4

1967



ANALYSE DE L'ACTION MORPHOGÉNÉTIQUE DES HORMONES THYROÏDIENNES SUR LE CERVELET DU JEUNE RAT (1)

Par JACQUES LEGRAND (2)

(Laboratoire de Physiologie comparée,
Faculté des Sciences de Paris [Directeur : P^r A. JOST].)

I. — INTRODUCTION

Chez le jeune Rat blanc hypothyroïdien, une couche de grains externes persiste à la surface du cervelet au-delà des délais normaux (LEGRAND, KRIEGLER et JOST, 1961; LEGRAND, 1963; HAMBURGH,

LYNN et WEISS, 1964). Ce trouble s'accompagne d'autres modifications histologiques dans le cervelet, telles que des différences, après l'âge de 14 jours, dans le développement de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje, et un retard dans l'apparition des glomérules cérébelleux (LEGRAND, 1964, 1965).

(1) Article principal recouvrant en partie la thèse de doctorat ès sciences naturelles présentée à la Faculté des Sciences de Paris par JACQUES LEGRAND, ayant pour sujet : Analyse de l'action morphogénétique de la thyroïde sur le cervelet du jeune Rat, et soutenue le 11 avril 1967 devant la Commission d'examen : MM. COUTEAUX, *Président*; JOST et BUSER, *Examineurs*. Numéro d'enregistrement au C.N.R.S. : AO 1402.

(2) Nouvelle adresse : Laboratoire de Physiologie comparée, Faculté des Sciences, 34-Montpellier.

L'étude histologique, à de nombreux stades rapprochés, de la maturation du cortex cérébelleux chez des témoins normaux et sous-alimentés d'une part, chez des animaux hypothyroïdiens d'autre part, a permis de préciser la date d'apparition et la nature des anomalies. La croissance et la ramification des den-

drites des cellules de Purkinje ont été estimées de façon quantitative sur des préparations Golgi-Cox.

Le présent travail, s'il reprend certains des résultats publiés antérieure-

ment, est destiné à les compléter et à les préciser, en particulier en ce qui concerne la maturation des cellules de Purkinje et ses modifications chez l'animal hypothyroïdien.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé des Rats blancs provenant d'un élevage privé d'animaux Wistar de la souche C. F. du C. N. R. S. En ce qui concerne le déroulement de la maturation du cortex cérébelleux, nous n'avons pas trouvé de différence entre les mâles et les femelles d'un même groupe expérimental. De plus, pendant la plus grande partie de la période du développement qui nous intéresse et pour un âge donné, le poids des mâles et celui des femelles sont les mêmes; nous omettrons donc de signaler le sexe des animaux.

A. — RÉALISATION DE L'HYPOTHYROIDISME

L'hypothyroïdisme du jeune a été réalisé de trois manières.

1° Administration quotidienne de propylthiouracile à la mère.

Le propylthiouracile (PTU) a été donné en gavage aux mères (50 mg/jour, par sonde stomacale, dans de l'eau sucrée). Dans la plupart des expériences, le traitement a été commencé à un âge variable compris entre le seizième jour de gestation et le jour de la naissance, et poursuivi jusqu'à la veille du sacrifice. Il provoque, aux doses utilisées, une intense hyperplasie des thyroïdes maternelles et fœtales en fin de gestation (Jost, 1957). Nous avons vérifié histologiquement que cette hyperplasie thyroïdienne se maintient chez le jeune pendant toute la durée du traitement, jusqu'à l'âge de 35 jours après la naissance. Le PTU passe en effet dans le lait et, le sevrage spontané étant fortement retardé, on trouve encore régulièrement du lait dans l'estomac des jeunes de 35 jours

(à côté de biscuits); l'hyperplasie de la thyroïde est toutefois moins forte à 35 jours que dans les stades plus jeunes, si bien qu'il est possible que la glande ait alors recommencé à fonctionner légèrement.

Qu'il s'agisse de l'apparition des signes du crétinisme expérimental ou des modifications histologiques dans le cervelet, on n'a pas enregistré de différence selon la date à laquelle était commencé le traitement; il semble que, dans les phénomènes étudiés, l'action morphogénétique des hormones thyroïdiennes maternelles ou fœtales soit absente ou négligeable avant la naissance.

La correction par la thyroxine des troubles observés pendant l'administration du PTU permet de penser que les effets toxiques éventuels du PTU ne sont pas responsables des phénomènes étudiés.

2° Radiothyroïdectomie.

Elle a été réalisée soit selon la technique de GOLDBERG et CHAIKOFF (1949), en donnant par voie intrapéritonéale 100 à 200 μ c de ^{131}I aux nouveau-nés, à un moment où la captation d'iode radio-actif par la thyroïde est très intense (FLORSHEIM et coll., 1966), soit en administrant l'iode radio-actif à la mère (1 mc par voie intraveineuse) la veille de l'accouchement (après 21 jours de gestation). A cet âge, la thyroïde fœtale est capable de concentrer l'iode radio-actif injecté à la mère (GORBMAN et EVANS, 1943), et l'iode la détruira ultérieurement (SPEERT, QUIMBY et WERNER, 1956). La plupart des animaux ainsi traités ont été sacrifiés à 21 jours. La thyroïde s'est révélée complètement nécrosée chez quelques-uns des animaux qui avaient reçu l'iode radio-actif à la naissance; les autres conservaient de petits nodules thyroïdiens dans

lesquels on pouvait reconnaître quelques follicules. Chez les jeunes dont la mère avait reçu de l'iode radio-actif avant l'accouchement, il subsistait toujours un nodule thyroïdien un peu plus important. Il est intéressant de constater que tous ces animaux porteurs de nodules thyroïdiens résiduels ont développé des signes de crétinisme, avec une intensité variable. Chez quelques animaux de 21 jours injectés d'iode à la naissance, l'étude histologique de la région thyroïdienne a révélé la présence de restes thyroïdiens plus importants et d'aspect plus normal. Chez ces animaux, les signes caractéristiques du crétinisme expérimental ne sont pas apparus ou sont restés très discrets. Ils n'ont pas pour autant été éliminés de notre étude et leur cervelet a été examiné.

La radiothyroïdectomie est très commode, mais elle présente le gros inconvénient de ne pas provoquer une déficience thyroïdienne brutale. On sait que la thyroïde peut être entièrement détruite une semaine après l'injection au nouveau-né d'une dose de radio-iode supérieure à 80 μC (GOLDBERG et CHAIKOFF, 1949), mais on ne sait pas au bout de combien de jours la production d'hormones thyroïdiennes est stoppée chez de tels animaux. Même lorsque la thyroïde est complètement nécrosée, les signes de crétinisme ne sont pas aussi nets que chez les animaux traités par le PTU depuis la naissance; il est donc probable que l'hypothyroïdisme s'installe moins rapidement.

3° Thyroïdectomie chirurgicale.

L'ablation de la thyroïde a été faite sous anesthésie à l'éther, le jour de la naissance. La région thyroïdienne des animaux opérés a été étudiée sur coupes histologiques. Chez quelques-uns, l'ablation de la glande était complète; les animaux ont développé les signes du crétinisme expérimental avec la même intensité que les animaux traités par le PTU. Dans la majorité des cas, on a retrouvé de petits restes thyroïdiens d'aspect tout à fait normal, situés en général aux pôles supérieurs de la thyroïde. Mais chez tous les animaux qui conservaient des restes thyroïdiens très petits, ceux-ci n'ont pas permis une croissance normale et n'ont pas empêché l'apparition de l'aspect crétinoïde

caractéristique du jeune hypothyroïdien. Dans quelques cas, l'étude histologique de la région thyroïdienne a révélé la persistance de restes thyroïdiens très importants; les animaux s'étaient développés normalement; ils ont été considérés comme des témoins opérés, au même titre que d'autres ayant subi seulement un simulateur de thyroïdectomie. De tels animaux permettent de connaître la part éventuelle qui pourrait revenir au traumatisme causé par l'opération.

Cette méthode a le gros avantage de réaliser un hypothyroïdisme brutal. Cependant, les difficultés techniques d'une thyroïdectomie chirurgicale complète chez le nouveau-né ou le très jeune Rat en limitent l'intérêt lorsqu'on veut travailler sur un nombre suffisamment élevé d'animaux.

B. — ADMINISTRATION DE THYROXINE A L'ANIMAL HYPOTHYROÏDIEN

La thyroxine employée est soit de la DL-thyroxine cristallisée des laboratoires Hoffman-la-Roche, mise en suspension fine et homogène dans de l'eau salée stérile, soit de la DL-thyroxine Roche, en solution dans de l'eau salée à pH basique convenable. Les injections ont été faites par voie intrapéritonéale (thyroxine en suspension sous un volume de 1/10 ml) ou sous-cutanée (thyroxine en solution sous un volume de 1/40 ml). Les doses employées, qui vont de 2 μg à 6 μg de DL-thyroxine par jour, sont probablement supérieures aux quantités strictement nécessaires pour un déroulement normal des processus de maturation. Ces dernières sont en effet très faibles (de l'ordre d'une fraction de $\mu\text{g}/\text{jour}$), comme l'ont montré ASLING et EVANS (1963) pour les processus de maturation squelettique, de même que sont très faibles les quantités d'hormones endogènes produites par jour (PREMACHANDRA, 1963); elles sont en tout cas nettement inférieures aux doses que requiert le Rat thyroïdectomisé pour maintenir son métabolisme à un niveau normal (EVANS, ROSENBERG et SIMPSON, 1960). Les doses que nous avons employées ne sont pourtant pas toxiques: elles provoquent, en particulier, une augmentation de la croissance pondérale chez les animaux hypothyroïdiens.

C. — TECHNIQUES HISTOLOGIQUES
POUR L'ÉTUDE DU CERVELET

Pour des raisons de commodité d'orientation des pièces, toutes les coupes ont été faites dans la partie médiane du vermis selon le plan sagittal. C'est dans ce plan que se développent les arborisations dendritiques des cellules de Purkinje. La structure histologique du cortex cérébelleux est identique en tous ses points, mais la maturation des zones périphériques est légèrement en retard par rapport à celle des zones profondes proches du tronc cérébral; on note également des petites variations avec le lobe considéré; les comparaisons ont par suite toujours porté sur la même zone périphérique du cortex cérébelleux, englobant le culmen et le déclive, de part et d'autre de la fissure primaire.

1° *Techniques histologiques
et histoenzymologiques.*

Tous les animaux ont été sacrifiés par saignement au cœur, à des âges variables compris entre 5 et 35 jours. Après le sacrifice, le cervelet et le tronc cérébral sous-jacent (bulbe rachidien et protubérance annulaire) sont disséqués rapidement, puis traités selon l'une des techniques suivantes :

a) Dans le plus grand nombre de cas, les pièces ont été fixées soit dans un mélange d'alcool 80° (90 volumes), de formol 30 % (5 volumes) et d'acide acétique (5 volumes), soit dans du fixateur de Carnoy, soit dans du Bouin aqueux. Les pièces sont sectionnées selon le plan médio-sagittal en deux moitiés et, après inclusion à la paraffine, des coupes médio-sagittales du vermis sont réalisées selon le plan de section précédent (4, 5 ou 7,5 μ). Après les deux premiers fixateurs, les coupes sont colorées par le crésyl-violet (solution aqueuse à 1‰ légèrement acétifiée) et différenciées dans plusieurs bains d'alcool 95°. Après fixation au Carnoy, certaines sont colorées par le bleu de toluidine (solution aqueuse à 1‰) et déshydratées dans l'alcool butylique tertiaire. Après fixation au Bouin, elles sont colorées par l'hémalum-éosine. Toutes sont montées au baume du Canada.

b) Dans d'autres cas, la pièce est immédiatement congelée par détente de neige carbonique sur le porte-objet du cryostat. Des

coupes sagittales de 5 et 10 μ sont ensuite faites dans la partie médiane du vermis, la température du cryostat étant réglée sur -18° . Certaines coupes sont traitées pour mettre en évidence les sites d'activité succinodéshydrogénase (méthode au nitro-B. T. de Nachlas et coll., 1957, selon Lison, 1960, p. 767) et montées à la gélatine glycélinée. D'autres coupes sont fixées dans le mélange d'Altmann, colorées par la fuchsine anilinée d'Altmann, différenciées par l'orangé G et le vert de méthyle et montées au baume du Canada. Dans les deux cas, le traitement met en évidence les mitochondries. En effet, la succinodéshydrogénase ne se trouve que dans les mitochondries et plusieurs auteurs ont montré le parallélisme étroit qui existe entre la répartition des mitochondries, telle qu'on peut la voir sur une préparation mitochondriale classique, et la répartition des grains de formazan, après mise en évidence de l'enzyme par les sels de tétrazolium (TEWARI et BOURNE, 1962; SOTELO et WEGMANN, 1962; WEGMANN et SOTELO, 1962).

Les deux méthodes donnent des images satisfaisantes du péricaryon des cellules de Purkinje, ainsi que des glomérules cérébelleux. Dans les cas favorables, on obtient également de bonnes images de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje, tout au moins des plus gros troncs dendritiques. Toutes ces structures sont en effet riches en mitochondries.

c) Dans une troisième série d'expériences, enfin, les pièces sont plongées à l'obscurité pendant 2 mois au minimum dans le mélange de Golgi-Cox (bichromate de potassium 5 %, 20 ml; bichlorure de mercure 5 %, 20 ml; eau distillée, 40 ml; chromate de potassium 5 %, 16 ml). Les pièces sont ensuite sectionnées, selon le plan médio-sagittal, en deux moitiés qui sont déshydratées et incluses dans la celloïdine, puis coupées à 100 ou 200 μ selon le plan de section. Les coupes médio-sagittales du vermis sont ensuite révélées dans une solution d'ammoniaque 1/20 (solution du commerce diluée 20 fois), virées au chlorure d'or 2‰ et fixées dans une solution d'hyposulfite 5 %. Avec ou sans coloration surajoutée par le crésyl-violet, elles sont finalement débarrassées de la celloïdine et montées au baume. C'est sur ces coupes qu'a été faite l'étude quantitative du développement de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje.

2° *Méthode d'étude quantitative
du développement
de l'arborisation dendritique
des cellules de Purkinje.*

a) FAÇON DE PROCÉDER. — Les cellules de Purkinje bien imprégnées et non sectionnées par le plan de coupe ont été projetées en chambre noire sur une série de cercles concentriques dont le centre commun coïncidait avec la base de la dendrite primaire (cône de croissance de l'arborisation dendritique). Sur le papier, les cercles sont équidistants d'un centimètre, ce qui correspond sur la coupe à une distance de 20 μ ($\times 500$). La figure 55 illustre la façon de procéder.

Pour chaque cellule, on a compté le nombre de dendrites coupant les cercles successifs. Plusieurs cellules ont ainsi été étudiées chez un même animal, et plusieurs individus dans un même groupe. Finalement, c'est un total minimum de 24 cellules qui a caractérisé une catégorie d'animaux. Pour chaque distance de la base de la dendrite primaire, on a fait la moyenne des différents comptages. Cette moyenne a servi pour l'établissement du « profil moyen » de la cellule de Purkinje, caractéristique de la catégorie d'animaux étudiée, et obtenu en portant en ordonnée la distance en μ à partir de la base de la dendrite primaire, et, en abscisse, le nombre moyen de ramifications rencontrées à cette distance.

b) INTERPRÉTATION DES TRACÉS (fig. 56). — Chaque tracé est l'image de la silhouette d'une cellule de Purkinje moyenne; il donne une idée du degré de développement de son arborisation dendritique. L'augmentation en hauteur du tracé rend compte de l'augmentation de la distance maximum, mesurée à partir de la base de la dendrite primaire, à laquelle s'étendent les ramifications dendritiques; elle rend compte de l'épaississement de la zone moléculaire avec l'âge croissant des animaux. Le déplacement de la distance à laquelle on trouve le maximum de ramifications, avec l'âge croissant des animaux, rend compte de l'envahissement progressif de la zone moléculaire par les dendrites des cellules de Purkinje.

L'élargissement du tracé indique que le

nombre de ramifications qui naissent est supérieur à celui des ramifications qui se terminent. Son rétrécissement indique au contraire que le nombre des ramifications qui se terminent est supérieur à celui des ramifications qui apparaissent.

c) CRITIQUE DE LA MÉTHODE. — Il est généralement assez facile, dans des coupes aussi épaisses que celles que nous employons, de repérer les cellules dont l'arborisation n'est pas sectionnée par le plan de coupe. Mais il convient de remarquer que :

— on ne compte que les prolongements suffisamment gros pour être bien observables au microscope optique (dendrite primaire, ramifications secondaires, tertiaires et quaternaires). Les épines partant des ramifications quaternaires ne sont pas et ne peuvent pas être prises en compte. Pourtant, ce sont elles qui constituent les lieux de contact synaptique avec les axones en T des grains (cf. FOX et BARNARD, 1957; GRAY, 1961). Leur importance fonctionnelle est donc considérable. Le tracé obtenu ne fournit que l'image du squelette de l'arbre dendritique de la cellule de Purkinje. On peut toutefois penser que le nombre d'épines, donc de contacts synaptiques, entre les dendrites des cellules de Purkinje et les axones des grains varie dans le même sens que le nombre et la longueur des ramifications dendritiques.

— des dépôts parasites cachent parfois des ramifications au moment où elles franchissent les cercles repères; ces prolongements ne peuvent alors être comptés.

— inversement, des prolongements n'appartenant pas à la cellule de Purkinje peuvent être confondus avec des dendrites et comptés avec elles.

— on commet enfin des erreurs dans la mesure des distances dues au fait que le plan de coupe ne coïncide pas toujours parfaitement avec celui dans lequel s'est développée l'arborisation dendritique.

Malgré toutes les critiques auxquelles elle est sujette, cette méthode, déjà employée avec des variantes par de nombreux neuro-anatomistes, est valable. La similitude des silhouettes obtenues pour tous les animaux appartenant à une même catégorie expérimentale le prouve. D'autre part, l'allure des tracés (fig. 56) est en accord avec l'impression subjective que laisse l'examen des coupes (fig. 39 à 42 et 43 à 54).

III. — DÉVELOPPEMENT DU CERVELET
CHEZ L'ANIMAL NORMAL.
INFLUENCE DE LA SOUS-ALIMENTATION

Le cervelet des animaux hypothyroïdiens devant être comparé à celui des témoins de même âge ou plus jeunes, il était indispensable d'étudier, à différents stades rapprochés, le développement du cervelet chez l'animal normal. L'hypothyroïdisme entraînant d'autre part une diminution de la croissance pondérale, il nous a paru intéressant de chercher à savoir si, aux différents stades étudiés, le degré de maturation histologique du cervelet dépendait du poids des animaux. Dans ce but, nous avons étudié des animaux normaux de poids très variable; nous avons aussi étudié le cervelet d'animaux sous-alimentés.

A. — CERVELET DE L'ANIMAL NORMAL

Les animaux normaux figurent dans le tableau I. Les poids extrêmes pour chaque stade étudié sont portés sur la figure 1.

Les résultats de l'étude histologique du développement du cervelet, chez l'animal normal, confirment, à de petits détails près, les très belles observations d'ADDISON (1911) et les travaux plus récents, en particulier ceux de CAPANNA (1960 *a* et *b*). Ils viennent de recevoir une confirmation supplémentaire (DA-DOUNE, 1966).

TABLEAU I. — ANIMAUX NORMAUX

Age au sacrifice (jours)	Nombre total d'animaux	Poids moyen (g)	Poids extrêmes (1) (g)	Nombre de cervelets étudiés selon l'une des techniques suivantes		
				Paraffine	Cryostat	Golgi-Cox
5	3	—	11 - 11,2	3	—	—
7	18	13	10,9 - 16,1	16	2	—
8	7	—	14,1 - 16,6	3	—	4
9	8	—	10 - 19,7	—	—	8
10	24	18,4	15,2 - 22,8	18	1	5
13	3	—	18,9 - 21,3	3	—	—
14	34	23,5	17,2 - 35,5	21	6	7
17	3	—	27,5 - 34,1	3	—	—
18	15	25,2	19,4 - 28,4	6	4	5
21	56	—	29 - 49,5	27	—	—
		—	20 et 21	2	—	—
		35,3	24,6 - 48,6	17	3	7
24	13	41,3	34,8 - 56,5	6	2	5
28	14	61,6	45,2 - 80	6	2	6
35	9	75,2	33,2 - 92	1	2	6

(1) Cf. figure 1.

(2) 6 d'entre eux ont subi un simulacre de thyroïdectomie chirurgicale.

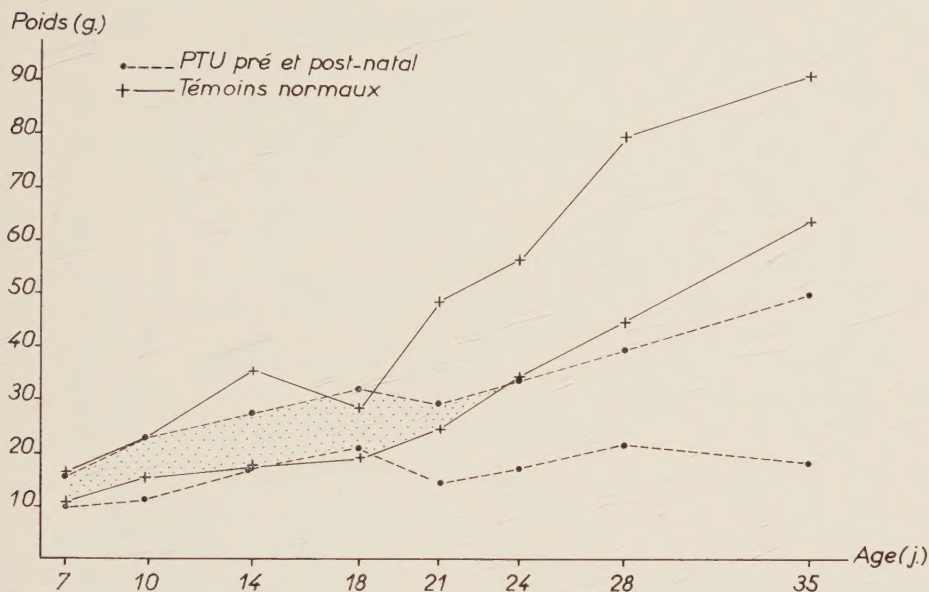


FIG. 1. — Evolution du poids des animaux témoins et des animaux soumis au PTU. Pour chaque stade sont portés les poids extrêmes dans les 2 catégories d'animaux. La surface en pointillé représente la zone de recouvrement dans laquelle les comparaisons à poids égal ont été possibles.

Les résultats concernant la répartition de la succinodéshydrogénase sont aussi en accord avec les données de la littérature (cf. SHINONAGA, 1965).

Le cortex cérébelleux immature est caractérisé par la présence, à sa périphérie, d'une couche de neuroblastes qu'on appelle « grains externes ».

1° Evolution de la couche des grains externes.

La couche granulaire externe est transitoire; déjà mise en place chez le fœtus, son épaisseur augmente chez le Rat jusqu'à l'âge d'environ 8-10 jours (fig. 2 et 4); elle est alors le siège de nombreuses mitoses. Elle s'amincit ensuite progressivement; le nombre des mitoses diminue, mais on peut en trouver tant que

la couche n'a pas entièrement disparu.

Les grains externes migrent vers les couches plus profondes du cortex cérébelleux, et leur destinée — qui est encore discutée — paraît double : certains deviendront des cellules définitives de la zone moléculaire, tandis que la majorité d'entre eux traversent l'assise des cellules de Purkinje et deviendront des grains internes. Cette migration avait été vue dès le siècle dernier dans différentes espèces (voir ADDISON, 1911), et, chez la Souris, elle a été récemment étudiée sur radio-autographies après marquage des noyaux par la thymidine tritiée (UZMAN, 1960; MIALE et SIDMAN, 1961; FUJITA et coll., 1966).

Chez le Rat, un petit nombre de grains migrent peut-être avant l'âge de 8-10 jours, mais la migration ne prend toute son ampleur qu'après cet âge.

L'épaisseur de la couche des grains externes diminue alors rapidement (fig. 6). A l'âge de 21 jours, la couche a disparu sur toute la surface du cervelet ou est réduite à une seule rangée discontinue de cellules (fig. 9), sauf à la surface du lobe C et du flocculus où 1 à 2 rangées de cellules subsistent encore pendant 2 ou 3 jours. A tous les stades, quelques petites variations peuvent être décelées selon l'individu considéré, mais le fait majeur à noter est l'indépendance qui existe entre le poids atteint par l'animal et l'épaisseur de la couche granulaire externe.

Nous avons étudié à ce point de vue 56 animaux de 21 jours; 54 de ces animaux avaient un poids variant de 24,6 à 49,5 g, deux autres avaient été choisis particulièrement petits (20 et 21 g, poids normal d'animaux âgés de 14 jours) pour pouvoir être comparés aux hypothyroïdiens de même poids. (cf. LEGRAND, KRIEGLER et JOST, 1961). Leur cortex cérébelleux présentait la même stratification que celui des témoins plus gros, la couche des grains externes avait partout disparu. Un retard de croissance de cet ordre n'entraîne donc pas de retard dans la migration des grains externes.

Pendant leur migration à travers la zone moléculaire, les grains présentent l'aspect de cellules fusiformes allongées verticalement. Les cellules verticales de la zone moléculaire sont peu nombreuses à 8 jours, elles le deviennent ensuite jusque vers 21 jours, âge auquel la couche granulaire externe a disparu ou est réduite à quelques cellules parsemées sous la méninge. A 24 jours, on trouve encore des éléments verticaux en assez grand nombre dans la zone moléculaire; à 28 jours (fig. 12), ils ont pratiquement disparu et sont complètement absents à 35 jours. Vers l'âge d'un mois, l'histo-

genèse, c'est-à-dire la mise en place des cellules, est donc terminée dans le cervelet.

Dans d'autres espèces que le Rat, la couche des grains externes commence ou a déjà commencé à diminuer d'épaisseur dès la naissance. C'est le cas chez l'Homme (RAAF et KERNOHAN, 1944). De ce point de vue, le cervelet du Rat est à la naissance plus immature que celui des autres espèces étudiées (ADDISON, 1911).

2° *Maturation des cellules de Purkinje.*

Les cellules de Purkinje se reconnaissent déjà à la naissance; elles sont alors disposées selon plusieurs rangées irrégulières. A partir de l'âge de 5 jours, les péricaryons tendent à s'aligner selon une seule assise située à la limite de la couche granulaire interne et de la zone moléculaire. Ce processus ne sera entièrement achevé qu'après 10 jours.

Jusqu'à l'âge d'environ 8 jours, le noyau des cellules de Purkinje est basal; le péricaryon présente un aspect chevelu; de toute sa surface, surtout de la masse de cytoplasme qui se trouve au futur pôle dendritique de la cellule, partent de fins prolongements dans toutes les directions. Dans le cytoplasme, le matériel basophile, d'aspect homogène ou poussiéreux, est concentré à la base et à la périphérie de la cellule; il limite, dans la partie apicale du péricaryon, une zone dont l'affinité pour les colorants des ARN est faible ou nulle.

Entre 8 et 10 jours, le noyau se déplace vers le centre du corps cellulaire; ce dernier perd son aspect chevelu, il prend un contour lisse, une forme arrondie et renflée; les corps de Nissl deviennent nettement observables dans le cytoplasme.

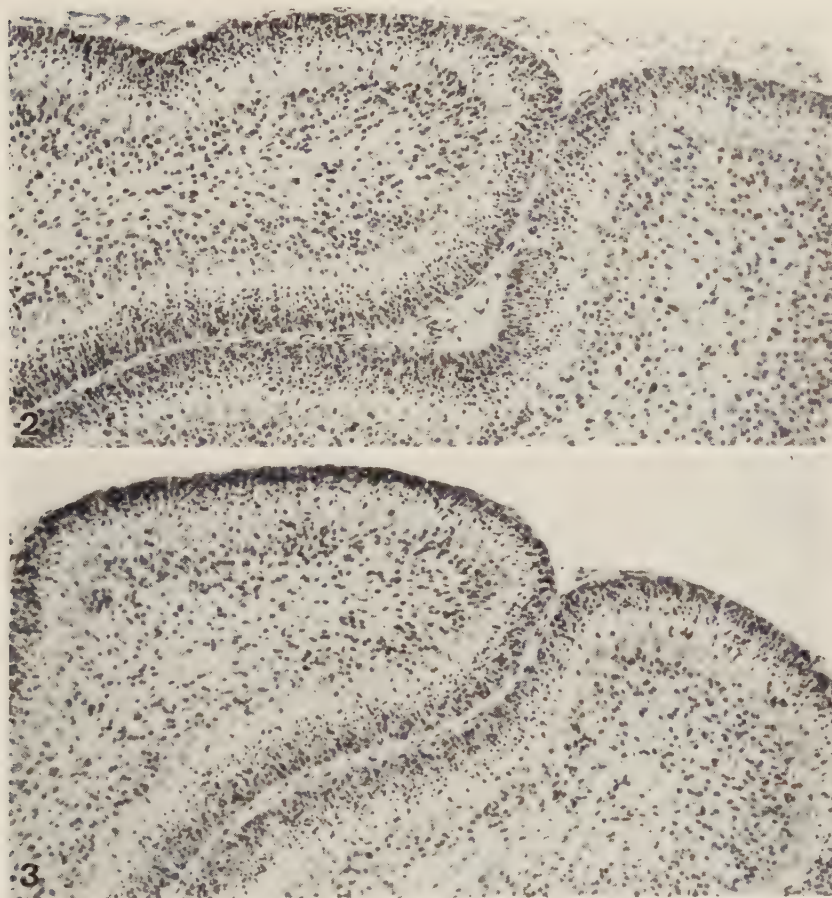


FIG. 2-3. — Stratification du cortex cérébelleux à l'âge de 10 jours. Coupes médio-sagittales du vermis, de part et d'autre de la fissure primaire, hémalum-éosine, $\times 130$.

FIG. 2. — Témoin.

FIG. 3. — Animal traité par le PTU. Pas de différence dans la stratification du cortex cérébelleux.

A 10 jours (fig. 14-16), dans certaines cellules, les corps de Nissl sont présents partout dans le cytoplasme (fig. 16); mais dans la plupart, ils sont encore limités à la base et à la périphérie du péricaryon (fig. 14 et 15). Au pôle dendritique, on observe alors toujours une plage peu basophile se colorant intensément par la fuchsine anilinée d'Altmann. Cette plage est donc riche en mitochon-

dries. La réaction succinodéshydrogénasique y est intense et homogène. D'autre part, le trajet des dendrites peut se suivre assez facilement dans la zone moléculaire, sur des coupes fines colorées à la fuchsine anilinée d'Altmann ou traitées pour mettre en évidence les sites d'activité succinodéshydrogénasique.

A 13 et à 14 jours, le noyau est toujours central; tous les péricaryons présentent

l'aspect piriforme rencontré chez l'adulte. Les corps de Nissl sont présents dans toute la surface des sections des péricaryons (fig. 20 à 22; fig. 26 à 28). Dans les coupes traitées pour mettre en évidence la succinodéshydrogénase (fig. 36), les grains de formazan sont dispersés dans tout le cytoplasme et les dendrites ne peuvent plus être distinguées dans la zone moléculaire qui présente alors une réaction diffuse (cf. LEGRAND, 1964, 1965).

Dans les stades plus âgés, les caractères morphologiques des péricaryons des cellules de Purkinje ne se modifient plus; la réaction succinodéshydrogénase diffuse de la zone moléculaire progresse vers la méninge, à mesure que disparaît la couche des grains externes.

Dans les préparations Golgi-Cox, l'arborisation des cellules de Purkinje présente, à partir de l'âge de 8 jours (stade le plus jeune qui ait été étudié), différents degrés de développement. A 8 jours, le péricaryon revêt l'aspect chevelu signalé précédemment; dans certaines cellules, la masse apicale de cytoplasme s'est allongée et forme un cône ou une dendrite épaisse qui portent à leur extrémité quelques ramifications.

Entre 8 et 10 jours, c'est-à-dire lorsque commence ou s'accélère la migration des grains externes, le péricaryon acquiert un contour lisse et l'arborisation dendritique s'oriente et s'organise dans le plan sagittal (fig. 39 et 41). A 14 jours, la ramure dendritique présente déjà un grand degré de complexité (fig. 43-46).

L'étude quantitative du développement de l'arborisation dendritique (fig. 56) montre que la largeur maximum et la hauteur des tracés, et par suite la complexité de la ramure, croissent pendant toute la période étudiée. Mais dès l'âge de 10 jours, jusqu'à une distance de 40 μ

de la base de la dendrite primaire, la largeur du tracé est aussi grande qu'à 35 jours; en d'autres termes, la base de l'arborisation est aussi ramifiée, son organisation est réalisée d'emblée. Après 10 jours, le développement de la ramure se fait uniquement par croissance et ramification des prolongements terminaux dans le plan sagittal.

Le nombre maximum d'intersections avec les cercles repères (fig. 55), rencontré à 40 μ de la base de la dendrite primaire chez les animaux de 10 jours, se situe à 80 μ chez les animaux de 14, 18 et 21 jours, et à 100 μ chez les animaux plus âgés. Ces chiffres traduisent l'augmentation de l'épaisseur de la zone moléculaire qui est rapide entre 10 et 14 jours, et plus lente ensuite.

L'extrémité des dendrites se situe toujours à la limite inférieure de la couche granulaire externe (fig. 39); les dendrites atteignent la surface du cervelet à 21 jours, lorsque la couche des grains externes a disparu. Le développement des dendrites des cellules de Purkinje est ainsi lié étroitement à la disparition de la couche granulaire externe. Le fait avait déjà été souligné, chez le Chat, par PURPURA et coll. (1964).

3° Développement de la couche granulaire interne.

Pendant la période étudiée, l'épaisseur de la couche granulaire interne augmente, surtout entre 8 et 18 jours, alors que la migration des grains externes est intense. A 7 jours (fig. 2) et 10 jours (fig. 4), les grains sont encore uniformément parsemés, mais à 14 jours (fig. 6) leur densité a fortement augmenté et ils se sont groupés différemment, avec des espaces libres entre eux.

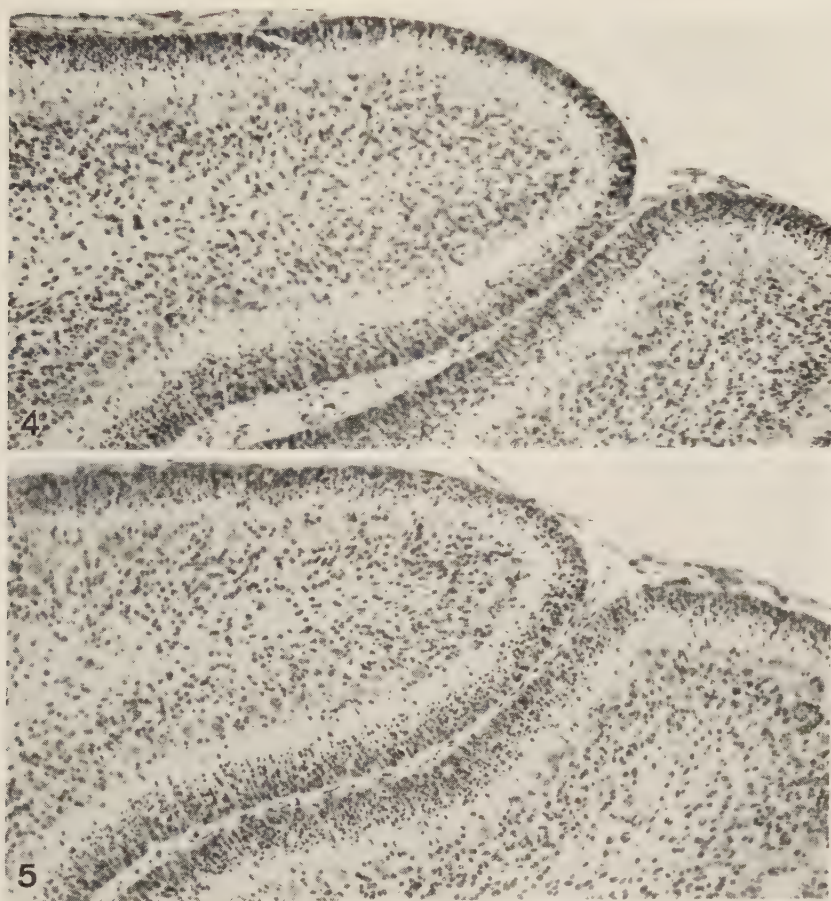


FIG. 4-5. — Stratification du cortex cérébelleux à l'âge de 10 jours.

FIG. 4. — Témoin.

FIG. 5. — Animal traité par le PTU. Il n'y a pas encore de différence sensible dans la stratification de l'écorce.

Ces espaces se colorent intensément par la fuchsine anilinée d'Altmann. Ce sont des plages riches en mitochondries et elles présentent une forte réaction succinodéshydrogénasique. Depuis les travaux de CAJAL et de HELD (cités d'après ADDISON, 1911), on sait qu'elles correspondent à des articulations synaptiques entre les fibres moussues, les dendrites des grains et des collatérales des axones des cellules de Golgi. Elles ont été appe-

lées glomérules cérébelleux. Par la méthode de l'argent réduit de CAJAL, les glomérules sont vus pour la première fois à 13 jours (ADDISON, 1911). Parsemés au sein de la couche des grains, ils lui donnent un aspect flocculeux caractéristique. Dans nos préparations, ils sont toujours présents à 14 jours, dans toute la surface des coupes (fig. 36) (cf. LEGRAND, 1964, 1965).

4° *Résumé et conclusions.*

De cette étude de l'histogenèse du cervelet chez l'animal normal, on retiendra que :

a) la migration des grains externes débute après la naissance; elle ne prend toute son ampleur que vers 8-10 jours et se termine pendant la quatrième semaine post-natale. Vers l'âge d'un mois, l'histogenèse du cervelet est terminée.

b) le développement de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje commence également vers 8 jours et les dendrites atteignent la surface de l'organe au moment où la couche des grains externes a disparu, c'est-à-dire vers 21 jours. A tout moment, le front de croissance des dendrites se situe à la limite interne de la couche granulaire externe. Il existe donc un parallélisme étroit entre la migration des grains externes et le développement des dendrites des cellules de Purkinje.

c) dès l'âge de 10 jours, l'organisation définitive de la base de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje est acquise et la plupart des péricaryons des cellules de Purkinje commencent à présenter les caractéristiques morphologiques de la cellule adulte (contour lisse, forme arrondie et renflée, noyau central, substance de Nissl dispersée dans tout le cytoplasme).

d) à l'âge de 14 jours, les glomérules cérébelleux sont partout présents dans la couche granulaire interne. Tous les corps cellulaires de Purkinje se présentent comme chez l'adulte.

e) l'état de développement du cervelet semble largement indépendant du poids atteint par l'animal au moment du sacrifice.

On remarquera enfin que la maturation du cortex cérébelleux se fait sensiblement en même temps que celle du cortex cérébral. Les cellules de Purkinje, en particulier, acquièrent leurs caractéristiques morphologiques adultes pendant la deuxième semaine post-natale, c'est-à-dire en même temps que les neurones pyramidaux du cortex cérébral (SUJITA, 1918; BRIZZEE et JACOBS, 1959; EATRS et GOODHEAD, 1959; MARTIN, 1962).

B. — CERVELET

DE L'ANIMAL SOUS-ALIMENTÉ

Pour essayer de savoir jusqu'à quel point le déroulement de la maturation histologique du cervelet est indépendant de l'évolution du poids de l'animal, les jeunes de plusieurs portées nombreuses ont été soumis à une sous-alimentation sévère. Les animaux n'ont pu téter leur mère que pendant quelques heures de la journée; le reste du temps, ils ont été placés en étuve humide. Leur cervelet a été étudié à 10, 14 et 21 jours, sur coupes à la paraffine et sur préparations Golgi-Cox (tableau II).

TABLEAU II. — ANIMAUX SOUS-ALIMENTÉS

Age au sacrifice (jours)	Nombre total d'animaux	Poids moyen (g)	Poids extrêmes (g)	Nombre de cervelets étudiés selon l'une des techniques suivantes	
				Paraffine	Golgi-Cox
10	5	11,6	10,5-12,9	2	3
14	8	15,8	14,5-16,7	5	3
21	11	17,9	14,3-21,8	6	5

FIG. 6-8. — Stratification du cortex cérébelleux à l'âge de 14 jours.

FIG. 6. — Témoin normal (poids : 27 g).

FIG. 7. — Témoin sous-alimenté (poids : 14,5 g). Pas de différence dans l'organisation de l'écorce par rapport au témoin normal.

FIG. 8. — Animal traité par le PTU (poids : 24 g). Epaisseur plus grande de la couche des grains externes. Anomalies dans la position des péricaryons des cellules de Purkinje. Différences dans l'organisation de la couche granulaire interne.

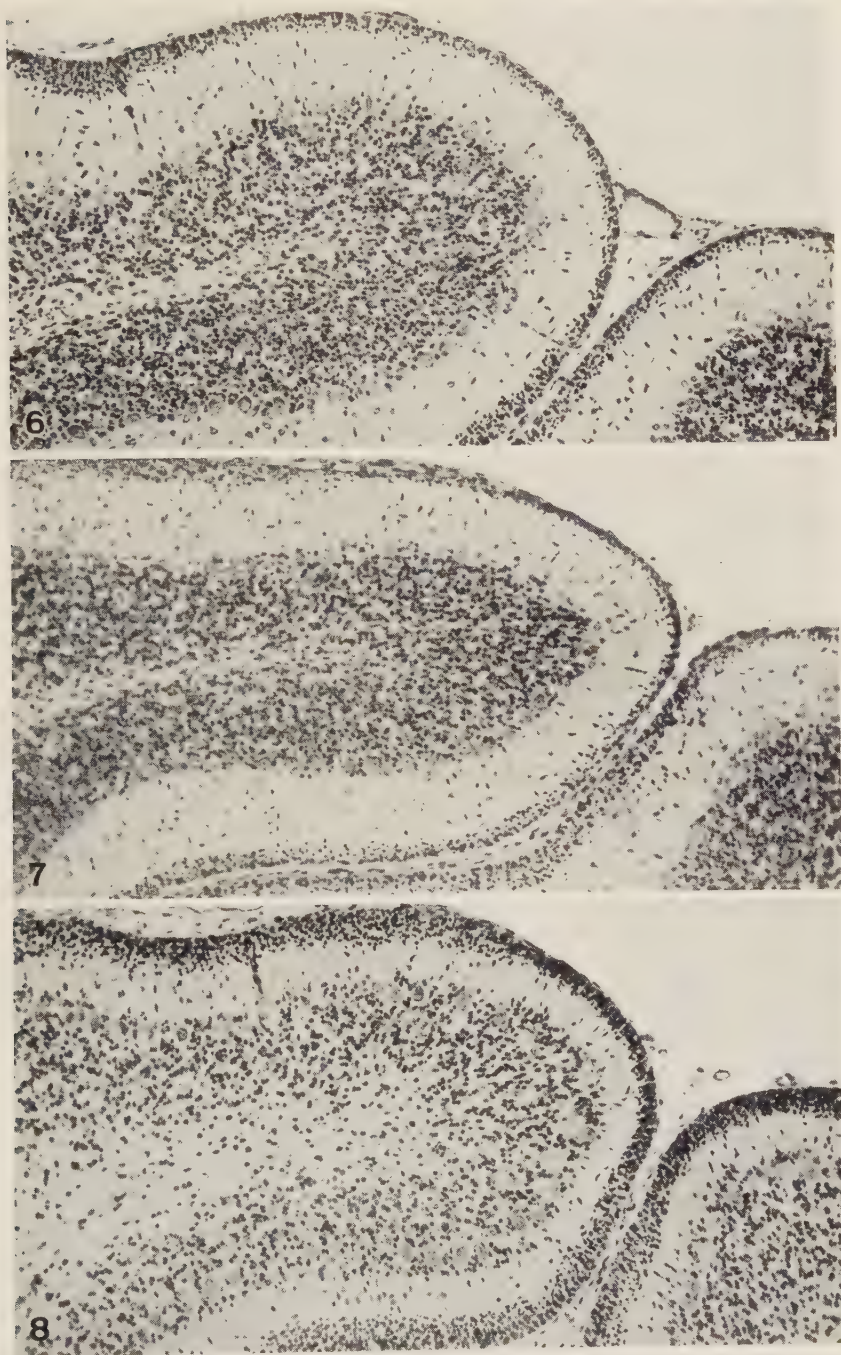


FIG. 6, 7 et 8.

1° Evolution du poids des animaux.

L'évolution du poids moyen des animaux sous-alimentés est indiquée dans le tableau II, sur lequel figurent également les poids extrêmes obtenus pour chaque stade étudié. On remarquera que la sous-alimentation a entraîné, dès l'âge de 10 jours, un ralentissement important de la croissance pondérale et que le poids de la plupart des animaux n'augmente pratiquement pas entre 14 et 21 jours. A 21 jours, les animaux montrent tous les signes d'une dénutrition sévère et la mortalité est importante.

2° Maturation du cortex cérébelleux.

A 10 et 14 jours (fig. 7), on n'observe aucune anomalie dans l'épaisseur de la couche des grains externes et dans la différenciation ou la position des péricaryons des cellules de Purkinje. A 21 jours, la couche des grains externes

a normalement disparu (fig. 10). Enfin, aux 3 stades étudiés, dans les préparations Golgi-Cox, les cellules de Purkinje possèdent une arborisation dendritique d'allure normale.

3° Conclusion.

La dénutrition sévère des jeunes rats, qui, déjà avant l'âge de 10 jours, se manifeste par une diminution importante de la croissance pondérale, ne s'accompagne pas d'un retard sensible dans la maturation des cellules de Purkinje ou la migration des grains externes. Même lorsque le poids des animaux n'augmente plus après l'âge de 14 jours, la disparition de la couche des grains externes s'achève normalement à 21 jours. Il n'y a pas de modification dans la mise en place et la différenciation des éléments de l'écorce cérébelleuse. De nombreux auteurs, en particulier des pédiatres, ont souligné l'indépendance très grande qui existe entre le développement du système nerveux et la croissance corporelle (cf. DAVISON et DOBBING, 1966; DOBBING, 1966; SERENI et coll., 1966). L'étude de l'histogenèse du cervelet en fournit un exemple particulièrement frappant.

IV. — DÉVELOPPEMENT DU CERVELET CHEZ L'ANIMAL RENDU HYPOTHYROÏDIEN A LA NAISSANCE

Il est nécessaire de rappeler tout d'abord les répercussions générales de la déficience thyroïdienne sur l'aspect des animaux, ainsi que sur leur croissance pondérale. Le poids des animaux constitue en effet un critère important de leur

degré de développement; l'intensité avec laquelle se développent les signes du crétinisme expérimental permet en outre de juger du degré d'hypothyroïdisme des animaux; enfin, il est intéressant de rechercher s'il existe une relation entre

Fig. 9-11. — Stratification du cortex cérébelleux à l'âge de 21 jours.

Fig. 9. — Témoin normal (poids : 40 g).

Fig. 10. — Témoin sous-alimenté (poids : 16 g). Pas de différence dans l'organisation de l'écorce. La couche granulaire externe a également disparu.

Fig. 11. — Animal traité par le PTU (poids : 22,5 g). Persistance d'une couche de grains externes. Densité cellulaire plus grande dans la zone moléculaire. Position anormale des péricaryons des cellules de Purkinje. Epaisseur plus faible de la zone moléculaire.

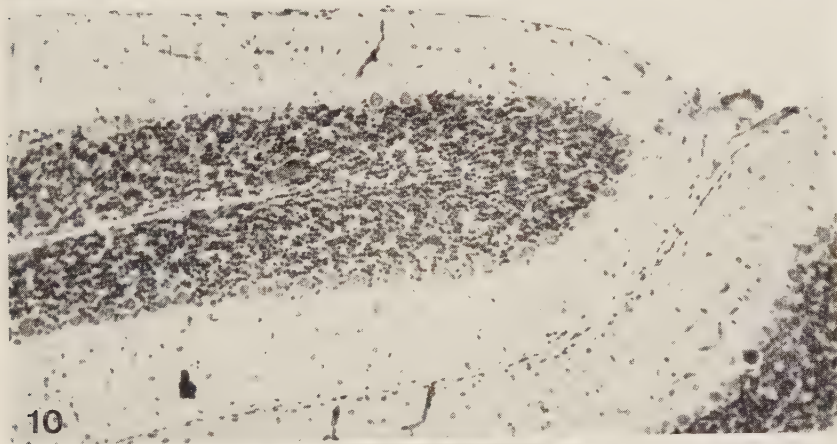


FIG. 9, 10 et 11.

l'apparition des signes du crétinisme expérimental et l'installation des modifications de la maturation du cervelet. Les animaux hypothyroïdiens figurent dans les tableaux III, IV et V.

A. DÉVELOPPEMENT DES RATS HYPO-THYROÏDIENS.

Les signes d'hypothyroïdisme et de « crétinisme » chez le Rat thyroïdectomisé chirurgicalement à la naissance

TABLEAU III. — ANIMAUX TRAITÉS PAR LE PTU AVANT ET APRÈS LA NAISSANCE

Age au sacrifice (jours)	Nombre total d'animaux	Poids moyen (g)	Poids extrêmes (1) (g)	Nombre de cervelets étudiés selon l'une des techniques suivantes		
				Paraffine	Cryostat	Golgi-Cox
5	3	—	12,2 - 12,9	3	—	—
7	21	12,7	9,1 - 15,1	17	4	—
8	5	—	12,7 - 18,6	3	—	2
9	4	—	13,5 - 15	—	—	4
10	23	18,2	10,6 - 22,6	18	1	4
13	3	—	20,5 - 21,2	3	—	—
14	36	21,7	16,6 - 27,4	26	5	5
17	3	—	26,6 - 28,9	3	—	—
18	15	24,3	20,8 - 32,1	6	4	5
21	38 { 33 5 14(2)	23	14,1 - 29,2	22	4	7
		—	—	5	—	—
		—	—	14	—	—
24	17	25,9	17,2 - 33,9	7	4	6
28	16	28,5	21,7 - 39,6	6	3	7
35	23	29,1	18,5 - 50,4	2	2	19

(1) Cf. figure 1.
(2) PTU post-natal uniquement.

TABLEAU IV. — ANIMAUX HYPOTHYROÏDIENS SACRIFIÉS A 21 JOURS; PRÉSENCE OU ABSENCE DES SIGNES DE CRÉTINISME ET DE LA COUCHE DES GRAINS EXTERNES

Traitement	Nombre d'animaux	Poids moyen (g)	Poids extrêmes (g)	Signes de crétinisme	Couche des grains externes
PTU pré-et post-natal	38 { 5 33	—	—	—	—
PTU post-natal	14	23	14,1-29,2	+	—
¹³¹ I in utero	6	—	—	+	+
		23,2	20,5-25,5	+	+
¹³¹ I à la naissance	39 { 13 24 2	—	—	+	+
		26,2	14 -44,1	+	+
		—	37,5 et 40	—	— (1)
Thyroïdectomie chirurgicale à la naissance	16 { 11 5	29,1	23,3-37,4	+	+
		—	25,8-39,9	—	— (1)

(1) Nodule thyroïdien important.

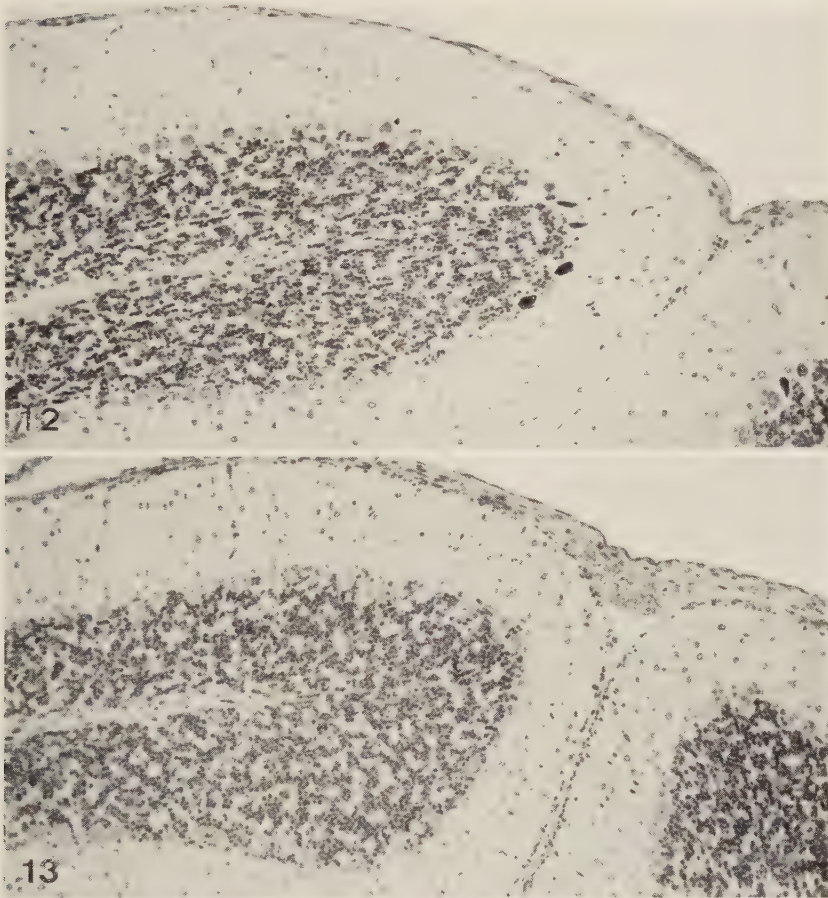


FIG. 12-13. — Stratification du cortex cérébelleux à l'âge de 28 jours.

FIG. 12. — Témoin.

FIG. 13. — Animal traité par le PTU. La couche granulaire externe n'a pas entièrement disparu. La zone moléculaire est moins épaisse; la densité cellulaire y est plus grande. Les péricaryons des cellules de Purkinje sont encore enfoncés dans les grains.

(SALMON, 1936, 1938; SCOW et SIMPSON, 1945; SCOW et coll., 1949), ou traités par un antithyroïdien avant et après la naissance (HUGHES, 1944; BARNETT, 1948, 1950), ont déjà été décrits avec précision (cf. LEGRAND, KRIEGLER et JOST, 1961) et ont été retrouvés ici. Pendant la première semaine post-natale, on ne décèle pas de différence entre l'aspect des té-

moins et celui des animaux hypothyroïdiens, même si l'hypothyroïdisme s'installe dès la fin de la vie fœtale. Ces différences apparaissent vers l'âge de 7 jours et deviennent nettes après l'âge de 8-10 jours. Le squelette de la plupart des animaux a été étudié et il est intéressant de remarquer que c'est à partir de l'âge de 7 jours également qu'on observe un

TABLEAU V. — ANIMAUX HYPOTHYROÏDIENS SACRIFIÉS A PLUS DE 21 JOURS

Age au sacrifice (jours)	Traitement	Nombre d'animaux	Poids extrêmes (g)	Etat de la thyroïde	Couche des grains externes
22	¹³¹ I naissance.	2	22 et 26	Nécrosée.	+
24	PTU post-natal.	1	—	« Antithyroïdien » (1).	+
26	PTU pré- et post-natal.	17	17,2-33,9	« Antithyroïdien ».	+
	¹³¹ I <i>in utero</i> .	1	29	Petit nodule.	+
28	PTU pré- et post-natal.	16	21,7-39,6	« Antithyroïdien ».	Présente mais très mince.
33	¹³¹ I naissance.	2	27	Nécrosée.	—
35	PTU pré- et post-natal.	23	18,5-50,4	« Antithyroïdien ».	—
61	¹³¹ I naissance.	1	28	Nécrosée.	—

(1) « Antithyroïdien » désigne ici l'aspect caractéristique de la thyroïde soumise à un antithyroïdien.

retard net de la maturation squelettique chez les animaux hypothyroïdiens, lorsqu'ils sont comparés à des témoins de même âge et de même poids (C. LEGRAND, résultats non publiés).

Le poids de l'animal constituant un critère tout aussi significatif que l'âge pour caractériser son degré de développement (Jost, 1954), pour l'étude du cerveau, nous avons comparé des animaux hypothyroïdiens par administration de PTU et des témoins choisis de même âge et de même poids ou de poids plus faible. La figure 1 montre l'évolution du poids dans les populations d'animaux traités par le PTU et de témoins correspondants

ainsi que, pour chaque stade, les valeurs extrêmes des poids dans les deux catégories d'animaux. Les comparaisons à poids égal ont été possibles jusqu'à l'âge de 21 jours, en prenant comme témoins des animaux de portées nombreuses; elles ne l'ont plus été ensuite, lorsque la croissance pondérale est pratiquement arrêtée chez les animaux hypothyroïdiens. On remarquera que, dans l'ensemble, le poids des animaux hypothyroïdiens reste supérieur à celui des témoins sous-alimentés.

Les animaux dont la mère reçoit du PTU montrent tous, invariablement, les signes du crétinisme expérimental; par contre, chez les animaux radiothyroïdec-

FIG. 14-19. — Animaux âgés de 10 jours. Différenciation du péricaryon des cellules de Purkinje. Coupes médio-sagittales du vermis, de part et d'autre de la fissure primaire, bleu de toluidine, $\times 720$.

FIG. 14-16. — Témoins. Dans les figures 14 et 15 les péricaryons conservent un aspect immature; le noyau est basal; au pôle dendritique, on observe une plage peu basophile. Dans la figure 16, les péricaryons ont acquis au contraire l'aspect qu'ils ont dans les stades plus âgés et chez l'adulte; la substance de Nissl a envahi tout le cytoplasme.

FIG. 17-19. — Animaux traités par le PTU. Noter la position excentrique du noyau qui fait parfois hernie sur les côtés du péricaryon, la forme irrégulière de ce dernier et la plage cytoplasmique peu basophile rappelant ce que l'on observe parfois chez les témoins du même âge (fig. 14 et 15).

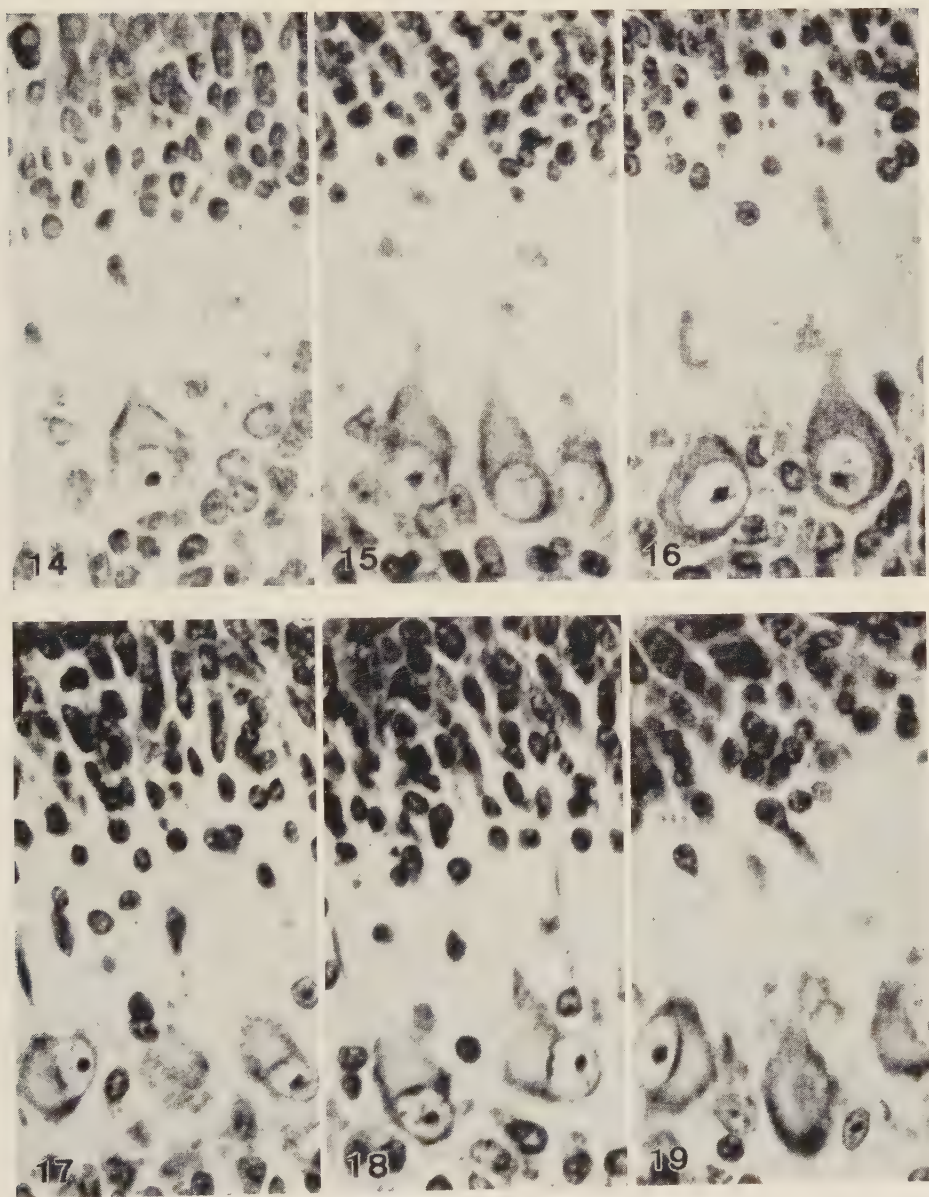


FIG. 14 à 19.

tomisés ou thyroïdectomisés chirurgicalement à la naissance, les signes se développent avec une intensité variable, d'autant plus faible que les restes thyroïdiens sont plus importants. L'étude histologique de la région thyroïdienne, l'intensité avec laquelle se développent les signes extérieurs du crétinisme expérimental, en particulier le retard d'ouverture des yeux et les anomalies de la forme de la tête et du développement des oreilles, enfin l'importance du retard de maturation squelettique sont autant de critères pour juger du degré d'hypothyroïdisme des animaux opérés ou ayant reçu une injection de radio-iode.

B. DÉVELOPPEMENT DU CORTEX CÉRÉBELLEUX.

1° EVOLUTION DE LA COUCHE DES GRAINS EXTERNES

Dans le cervelet de l'animal hypothyroïdien, les modifications les plus facilement observables concernent l'évolution de la couche des grains externes.

a) Animaux âgés de moins de 21 jours.

Jusqu'à l'âge de 10 jours, on n'a pas décelé de modifications nettes dans la stratification du cortex cérébelleux (fig. 3 et 5). Par contre, chez les jeunes de mères traitées par le PTU et âgés de 14 jours (fig. 8), et 18 jours, la couche des grains externes est plus épaisse que chez les témoins de même âge. On y observe de nombreuses mitoses, comme chez les témoins, surtout dans les stades les plus jeunes.

b) Animaux âgés de 21 jours.

C'est à 21 jours qu'ont été faites les observations les plus nombreuses (cf. LEGRAND, KRIEGEL et JOST, 1961; LEGRAND,

1963). Le tableau IV résume l'ensemble des résultats. Quel que soit le procédé employé pour créer l'hypothyroïdisme dans la période périnatale, quel que soit le poids de l'animal au moment du sacrifice, pourvu que celui-ci ait développé les signes du crétinisme expérimental, plusieurs assises de grains externes persistent à 21 jours sur toute la surface du cervelet (fig. 11). L'épaisseur de la couche des grains externes est sensiblement constante chez les animaux ayant reçu du PTU. Parmi les animaux radiothyroïdectomisés ou thyroïdectomisés chirurgicalement à la naissance, l'épaisseur de la couche des grains externes est plus variable. Elle est d'autant plus faible que les nodules thyroïdiens résiduels sont plus importants ou d'aspect plus normal. Dans les quelques cas où la couche avait disparu, l'étude histologique de la région thyroïdienne a toujours montré la présence de restes thyroïdiens très importants.

c) Animaux âgés de plus de 21 jours (tableau V).

Chez les animaux traités par le PTU (cf. LEGRAND, 1965), la couche granulaire externe est encore épaisse à 24 jours; elle est très mince mais toujours présente à 28 jours (fig. 13); elle a disparu à 35 jours. D'autre part, la densité cellulaire de la zone moléculaire est plus grande que la normale. Il pourrait s'agir là d'une manifestation de la diminution de la croissance du cerveau. Mais on trouve dans la zone moléculaire un nombre plus grand d'éléments verticaux, de forme bipolaire, souvent alignés perpendiculairement à la surface de la lamelle cérébelleuse; ces éléments sont bien visibles dans les figures 34 et 35; rappelons qu'il s'agit de cellules en

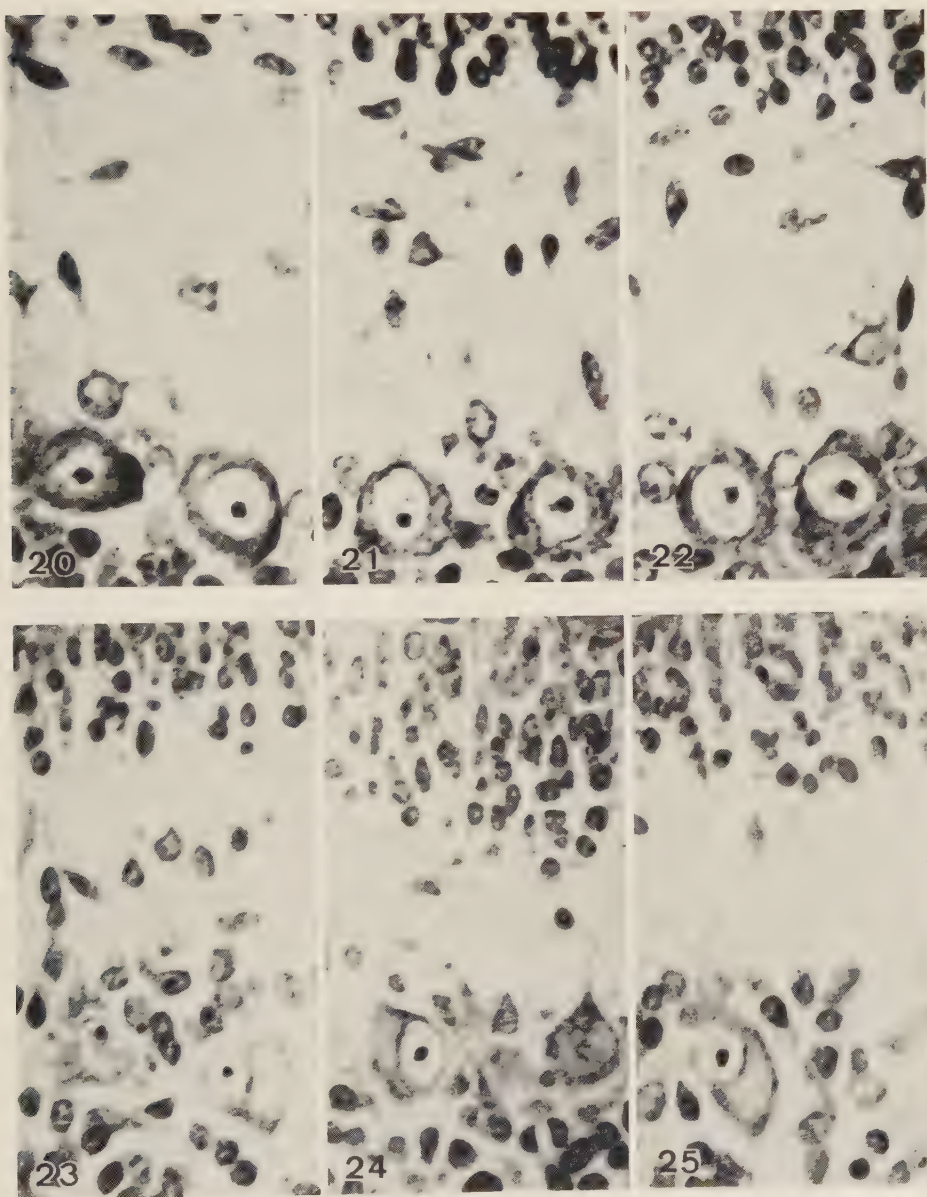


FIG. 20-25. — Animaux âgés de 13 jours. Différenciation du péricaryon des cellules de Purkinje.

FIG. 20-22. — Témoins. Forme renflée du péricaryon, noyau central, substance de Nissl répartie dans tout le cytoplasme du péricaryon des cellules de Purkinje.

FIG. 23-25. — Animaux traités par le PTU. Noyau excentrique, plage cytoplasmique peu basophile dans le péricaryon des cellules de Purkinje qui conserve une forme irrégulière. Remarquer également l'épaisseur plus grande de la couche des grains externes, le développement plus faible de la zone moléculaire et l'enfoncement des péricaryons des cellules de Purkinje au sein des grains.

train de migrer vers la couche des grains internes où elles termineront leur différenciation. Elles sont pratiquement absentes à 28 jours, c'est-à-dire en fin d'histogenèse du cervelet chez les animaux normaux. Chez les hypothyroïdiens de même âge, elles sont encore présentes en grand nombre; elles n'ont disparu qu'à 35 jours. La mise en place des éléments de l'écorce cérébelleuse s'achève donc avec un retard de l'ordre d'une semaine par rapport aux témoins.

Deux animaux radiothyroïdectomisés à la naissance et tués à 22 jours, un autre radiothyroïdectomisé *in utero* et tué à 26 jours, conservaient quelques assises de grains externes. Seul, l'animal sacrifié à 26 jours présentait quelques follicules thyroïdiens non nécrosés qui n'ont cependant pas provoqué la disparition complète de la couche fœtale de grains externes. Enfin, 3 rats radiothyroïdectomisés à la naissance et qui ne portaient aucun reste thyroïdien ont été sacrifiés à 33 jours (2 cas) et à 61 jours (1 cas). Chez les trois animaux, la couche fœtale du cervelet avait disparu (LEGRAND KRIEGLER et JOST, 1961).

2° MATURATION DES CELLULES DE PURKINJE

Des observations intéressantes, portant sur la position et la morphologie du péricaryon des cellules de Purkinje, ont été faites chez des animaux traités par le PTU ou radiothyroïdectomisés.

a) Observations portant sur le corps cellulaire.

Au contraire de ce que l'on observe après l'âge de 10 jours chez les témoins, les péricaryons des cellules de Purkinje restent, chez les hypothyroïdiens, en

partie noyées dans la couche granulaire interne et ne se disposent pas parfaitement selon une seule assise (fig. 23 à 25; fig. 29 à 31; fig. 34-35). On trouve parfois des cellules de Purkinje disposées selon plusieurs niveaux et profondément enfoncées dans la couche interne des grains.

Des anomalies affectent également la morphologie du corps cellulaire :

— *Animaux âgés de 10 jours.* Alors que chez l'animal normal de 10 jours, les péricaryons des cellules de Purkinje présentent un contour lisse, ils conservent, chez l'animal hypothyroïdien, un aspect chevelu, particulièrement visible dans les préparations Golgi-Cox (fig. 40 et 42); leur forme est irrégulière; le noyau se trouve souvent en position latérale ou apicale (fig. 17 à 19), alors que chez les témoins il est toujours basal.

— *Animaux âgés de 13 et 14 jours.* Alors que chez les témoins de 13 et 14 jours le corps cellulaire est piriforme et bien renflé, le noyau central, la substance de Nissl uniformément répartie dans le cytoplasme, chez les hypothyroïdiens, au contraire, le péricaryon présente une forme variable, le noyau reste excentrique, collé à la membrane cellulaire, le cytoplasme conserve souvent une plage peu basophile (dépourvue de corps de Nissl) mais très riche en mitochondries (fig. 23 à 25 et fig. 29 à 31); il présente aussi une activité succinodéshydrogénasique beaucoup plus intense que chez les témoins, il contient tant de grains de formazan qu'il prend une coloration intense et homogène (fig. 37) (cf. LEGRAND, 1964, 1965). La coloration par la fuchsine anilinée d'Altmann montre que chez l'animal hypothyroïdien la densité des mitochondries dans le cytoplasme est plus grande.

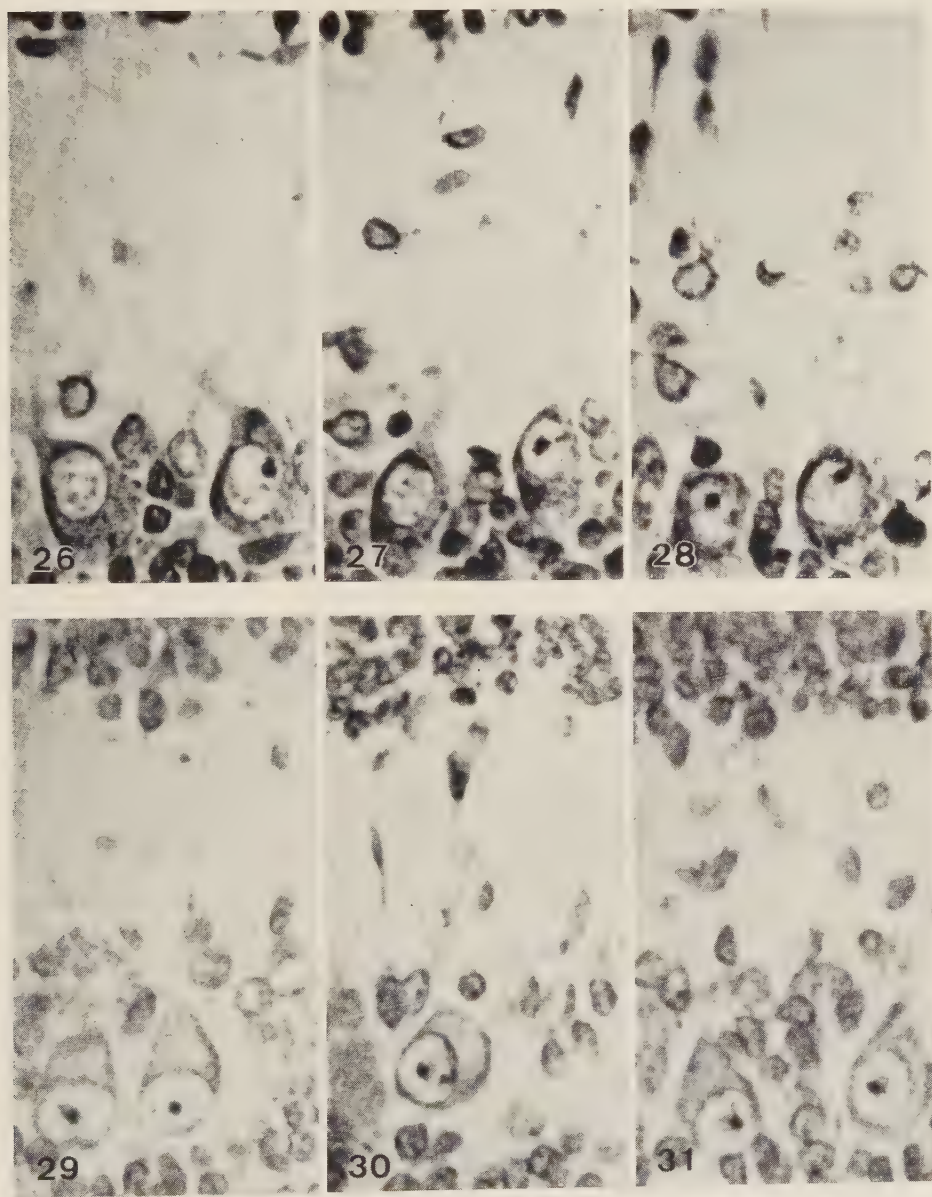


FIG. 26-31. — Animaux âgés de 14 jours. Différenciation du péricaryon des cellules de Purkinje.

FIG. 26-28. — Témoins.

FIG. 29-31. — Animaux traités par le PTU. Mêmes observations que sur les figures 23-25.

Chez l'animal hypothyroïdien, les cellules de Purkinje conservent donc à 14 jours des caractères morphologiques qu'on peut retrouver chez les témoins de 10 jours ou plus jeunes. Elles n'ont pas encore acquis l'aspect adulte.

— *Animaux plus âgés.* Chez les animaux plus âgés, les différences s'atténuent puis disparaissent avant l'âge de 21 jours. Les péricaryons des cellules de Purkinje finissent donc par acquérir les caractéristiques morphologiques de la cellule normale adulte. On note seulement, à tous les stades, un aspect plus poussiéreux de la substance de Nissl après fixation au Carnoy et coloration par le bleu de toluidine, et une allure généralement plus allongée (moins renflée) du péricaryon (fig. 34 et 35).

*b) Observations portant
sur l'arborisation dendritique.*

ETUDE SUR COUPES FINES. — Cette étude a porté également sur des animaux traités par le PTU ou radiothyroïdectomisés.

— *Animaux âgés de 14 jours.* Dans les coupes traitées pour mettre en évidence les sites d'activité succinodéshydrogénasique, comme dans celles qui sont colorées pour mettre en évidence les mitochondries, les dendrites des cellules de Purkinje présentent une coloration plus intense et plus homogène que chez les témoins (fig. 37). Par cette coloration intense, contrastant avec le fond non coloré, le trajet des dendrites peut se suivre dans la zone moléculaire (cf. LEGRAND, 1964, 1965). Chez les témoins, par contre, la zone moléculaire présente déjà une réaction diffuse et on ne peut plus y suivre les trajets des dendrites.

— *Animaux plus âgés.* Chez les animaux plus âgés, les différences s'atténuent. La réaction succinodéshydrogénasique et mitochondriale envahit progressivement la zone moléculaire à mesure que croît l'âge des animaux. Mais jusqu'aux stades les plus âgés qui ont été étudiés (28 et 35 jours), on arrive à distinguer le trajet des dendrites dans la zone moléculaire, ce qui n'est plus possible chez les témoins depuis l'âge de 14 jours.

ETUDE SUR PRÉPARATIONS GOLGI-COX.

— Dès l'âge de 8 jours, on note des différences entre les témoins et les animaux soumis au PTU. Les différences deviennent nettes à 10 jours (fig. 40 et 42). A cet âge, il n'y a pas encore de véritable ramure dendritique chez les animaux hypothyroïdiens. La dendrite primaire, sur une grande longueur, ne porte pas de ramifications ou ne porte que quelques ramifications très courtes. Au sommet, quelques dendrites secondaires et tertiaires constituent toute l'arborisation. L'ensemble revêt un aspect rigide qui contraste avec la gracilité de la ramure dendritique observée chez les témoins du même âge, mais rappelle ce que l'on observe parfois chez les témoins de 8 jours.

A 14 jours (fig. 51 à 54), l'arborisation s'est compliquée, mais elle reste beaucoup moins ramifiée et ne s'étale pas autant que chez les témoins dans le plan sagittal. Très souvent, sur une grande partie de sa longueur, la dendrite primaire ne porte pas encore de ramifications.

Dans les stades plus âgés, l'arborisation reste étriquée; il semble également que son degré de complexité ne croisse plus après l'âge de 18 jours.

Des observations identiques ont été

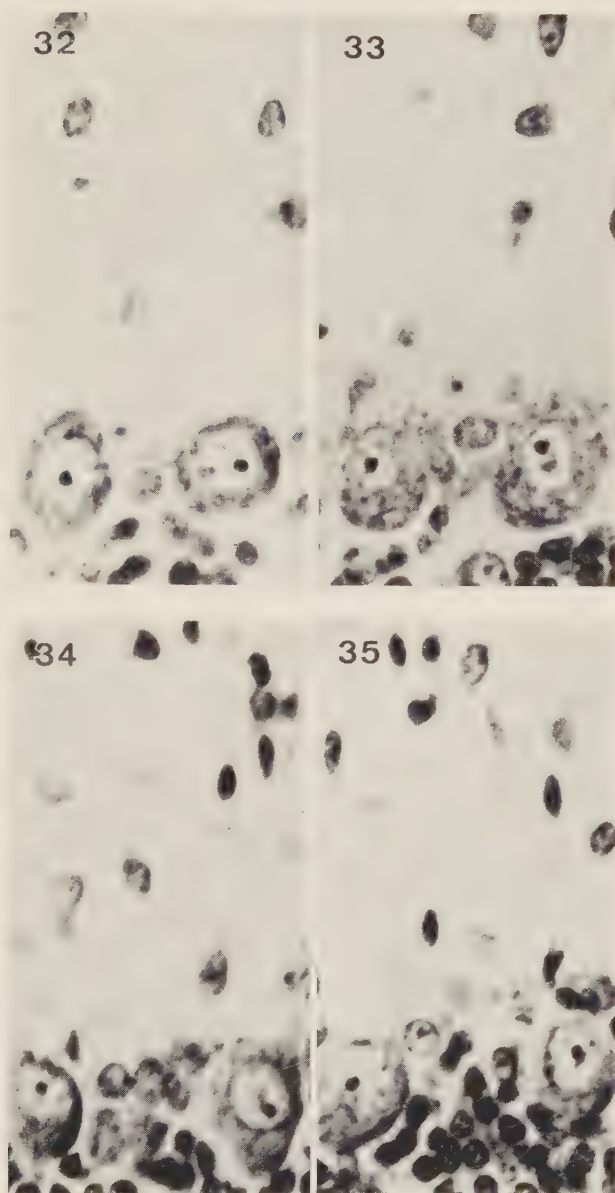


FIG. 32-35. — Animaux âgés de 21 jours. Différenciation du péricaryon des cellules de Purkinje.

FIG. 32-33. — Témoins.

FIG. 34-35. — Animaux traités par le PTU. Noter l'enfoncement des péricaryons des cellules de Purkinje au milieu de grains, ainsi que la persistance, dans la zone moléculaire, de nombreux éléments verticaux en train de migrer.

faites chez quelques animaux entièrement thyroïdectomisés à la naissance et étudiés à 14 jours (fig. 47 à 50), ainsi qu'à 21 et 28 jours.

L'étude quantitative du développement de l'arborisation chez les animaux traités par le PTU a permis de vérifier et de compléter ces observations (fig. 56).

A tous les stades étudiés (10 à 35 jours), la silhouette moyenne de la cellule de Purkinje est très différente de ce qu'elle est chez les témoins de même âge. Sa largeur est fortement diminuée. Dans le mode de représentation choisi, cette largeur est proportionnelle au nombre de ramifications dans le plan sagittal. C'est donc essentiellement le nombre de ramifications qui est fortement diminué. Latéralement, de part et d'autre du corps cellulaire, l'arborisation ne s'étale pas autant que chez les témoins. Aux âges de 10 et 14 jours, la silhouette est particulièrement rétrécie et l'organisation définitive de la base de l'arborisation n'est pas encore acquise. Par contre, la distance maximum à laquelle s'étendent les dendrites n'est pas encore réduite. A 18 jours, la base de la silhouette s'est élargie et a rattrapé le niveau des témoins; l'organisation définitive de la base de l'arborisation est donc enfin réalisée. Mais la silhouette reste très étroite, l'arborisation peu ramifiée et les prolongements ne s'étendent plus aussi loin du corps cellulaire que chez les témoins; l'épaisseur de la zone moléculaire est nettement réduite. A partir de 18-21 jours, le profil ne change pratiquement plus. Dans les stades les plus âgés, on note seulement l'apparition de nouvelles ramifications au sommet de l'arborisation et un léger allongement des ramifications terminales. Rappelons que, chez ces animaux, il est possible que la thyroïde se soit remise à fonctionner légèrement. Le

nombre maximum d'intersections avec les cercles (fig. 55), qui se trouvait à 40 μ du corps cellulaire chez les animaux de 10 jours, se déplace à 60 μ chez les animaux de 14 jours et ne change plus pendant tout le reste de la période étudiée.

3° DÉVELOPPEMENT DES GLOMÉRULES CÉRÉBELLEUX ET MATURATION DE LA COUCHE GRANULAIRE INTERNE

Des modifications très nettes ont été observées au niveau de la couche interne des grains chez des animaux traités par le PTU et, avec une intensité plus faible, chez des animaux radiothyroïdectomisés à la naissance. Elles n'apparaissent qu'après l'âge de 10 jours et sont très nettes à 14 jours. Alors que chez les témoins de 14 jours, la couche granulaire interne se distingue déjà très nettement de la substance blanche et présente l'aspect qui caractérisera les animaux plus âgés (fig. 6), chez les hypothyroïdiens du même âge (fig. 8), les grains internes ne forment pas encore une limite nette avec la substance blanche et sont encore uniformément parsemés comme chez les témoins de 7 ou 10 jours (fig. 2 et fig. 4).

Chez les témoins de 14 jours, les glomérules cérébelleux sont bien différenciés (fig. 36); chez les animaux qui ont reçu du PTU, ils sont absents dans toute la surface des coupes (fig. 37); chez les animaux radiothyroïdectomisés, ils sont absents seulement dans les zones périphériques du cervelet (cf. LEGRAND, 1964, 1965).

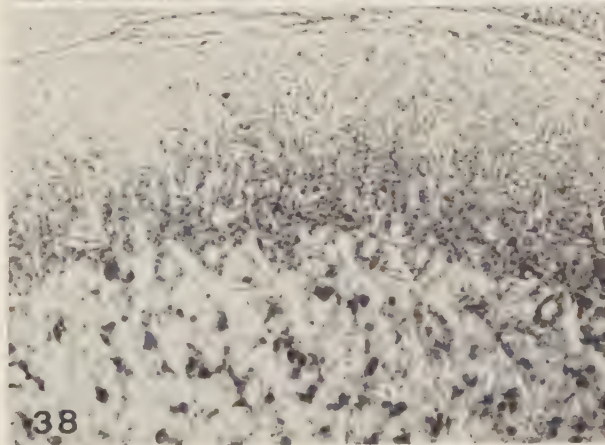
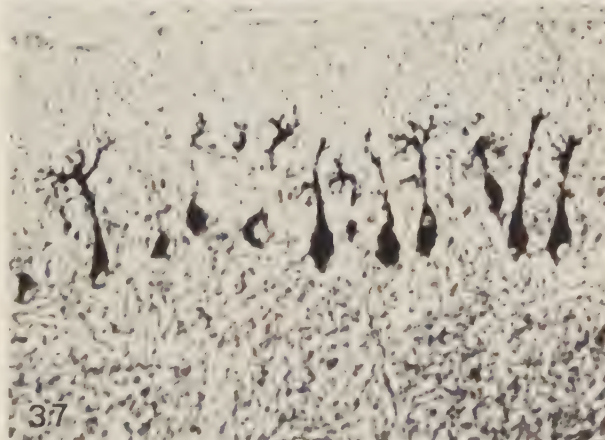
A 18 jours, chez les animaux ayant reçu du PTU, les glomérules cérébelleux ont apparu dans les zones profondes du cortex cérébelleux, proches du tronc cérébral, mais ne sont pas encore ap-

FIG. 36-38. — Animaux âgés de 14 jours. Coupes médio-sagittales du vermis, de part et d'autre de la fissure primaire, au cryostat. Mise en évidence de la succinodéshydrogénase par le nitro-BT, $\times 220$.

FIG. 36. — Témoin. Grains de formazan dispersés dans le cytoplasme des péricaryons des cellules de Purkinje, réaction diffuse de la zone moléculaire et présence des glomérules cérébelleux.

FIG. 37. — Animal traité par le PTU. Réaction intense et homogène des péricaryons des cellules de Purkinje et de leurs prolongements dendritiques. Absence des glomérules cérébelleux. Noter également la forme généralement allongée des péricaryons des cellules de Purkinje, la position excentrique de leur noyau et le faible développement des arborisations dendritiques.

FIG. 38. — Animal traité par le PTU, ayant reçu de la thyroxine depuis la naissance. Image histologique semblable à celle de la figure 36.



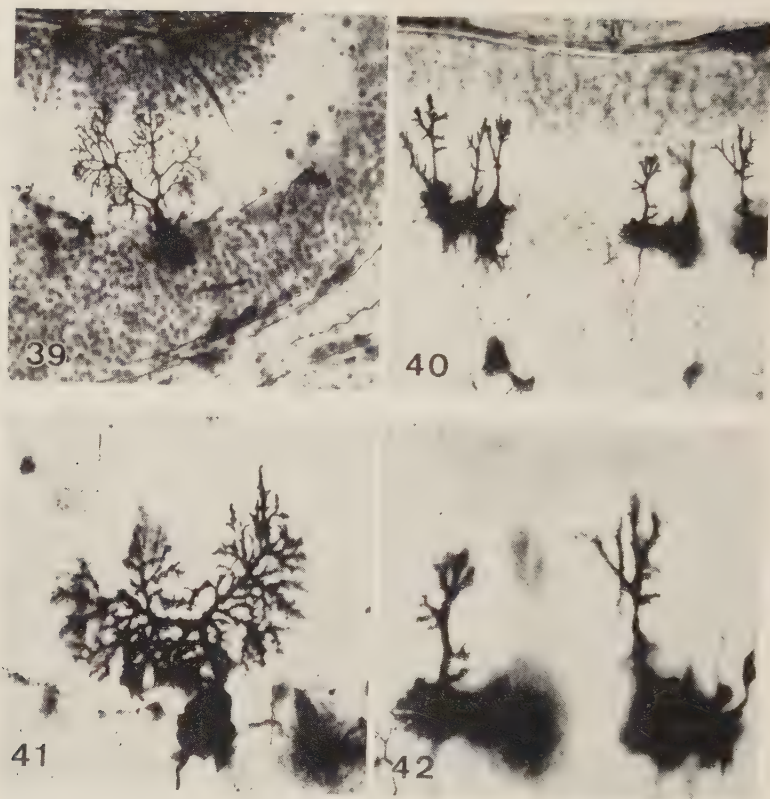


FIG. 39-42. — Développement de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje, à l'âge de 10 jours. Coupes médio-sagittales du vermis, de part et d'autre de la fissure primaire. Préparations Golgi-Cox avec coloration par le crésyl-violet, $\times 165$ et $\times 330$. Sur les images au faible grossissement, on voit que les dendrites se terminent à la limite interne de la couche des grains externes.

FIG. 39 et 41. — Témoin.

FIG. 40 et 42. — Animal traité par le PTU.

parus dans les zones périphériques qui nous servent de référence et dont la maturation est en retard sur celle des zones précédentes. Par contre, on les trouve dans toutes les zones du cervelet des animaux ayant reçu une injection de radioiode. Les signes de crétinisme sont moins nets chez les animaux radiothyroïdectomisés que chez les animaux traités par le PTU; la maturation de leur cervelet est également moins retardée.

Enfin, chez tous les animaux hypothy-

roïdiens, les glomérules cérébelleux ont apparu à 21 jours dans toutes les zones du cervelet, mais leur taille est réduite et ils montrent des formes plus irrégulières, des contours moins bien définis et une distribution moins homogène au sein des grains que chez les témoins (cf. LEGRAND, 1965). La couche granulaire interne, dont les éléments sont plus tassés les uns contre les autres, apparaît moins bien structurée. Ces modifications persistent jusqu'à la fin de la période étudiée.

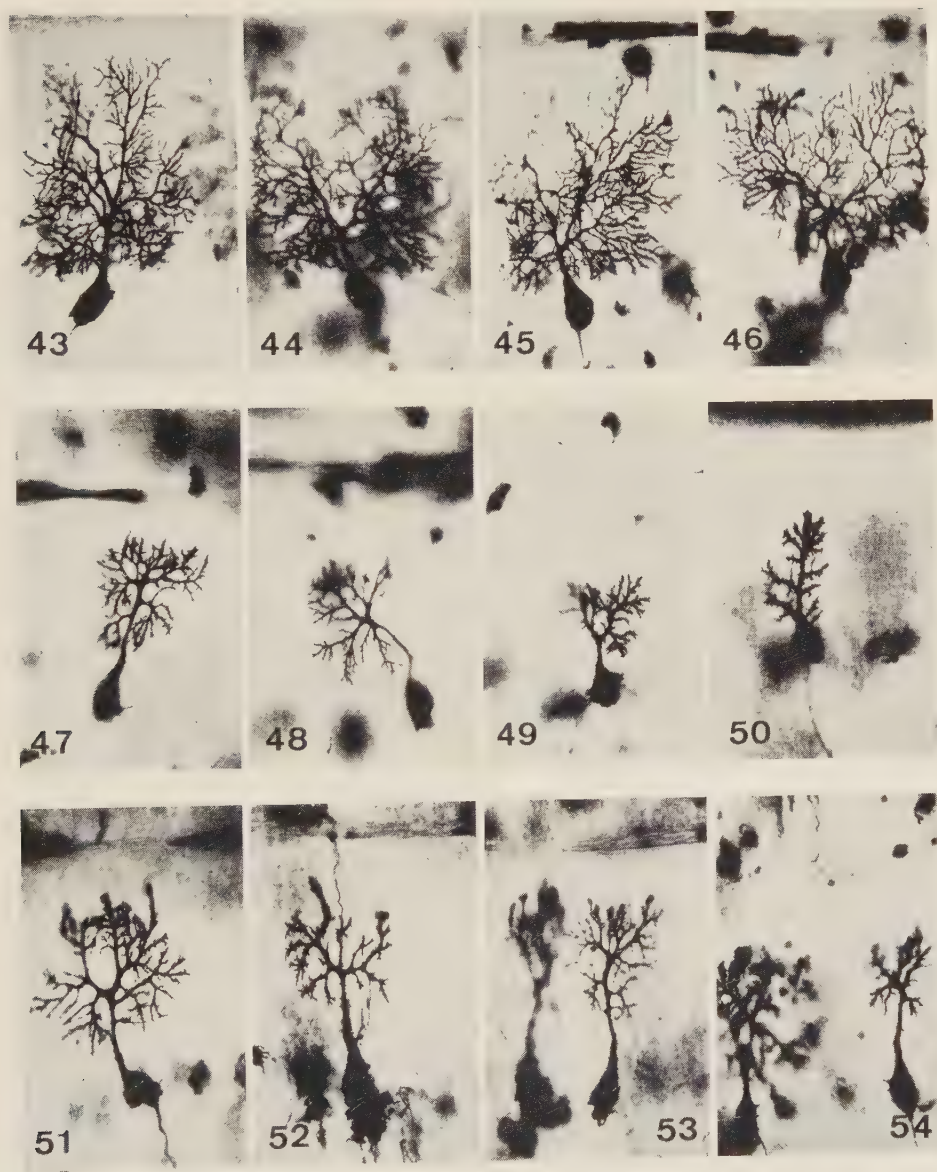


FIG. 43-54. — Développement de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje. Animaux âgés de 14 jours. Coupes médio-sagittales du vermis, de part et d'autre de la fissure primaire. Préparations Golgi-Cox, $\times 200$.

FIG. 43-46. — Témoins.

FIG. 47-50. — Animal thyroïdectomisé chirurgicalement à la naissance.

FIG. 51-54. — Animaux traités par le PTU.



Distance en μ	Nombre d'intersections
0	1
20	6
40	14
60	22
80	28
100	22
120	14

FIG. 55. — Méthode d'étude quantitative du développement de l'arborisation dendritique d'une cellule de Purkinje.

La cellule est projetée sur une série de cercles concentriques. Les cercles sont équidistants de 1 cm, ce qui correspond sur la coupe à une distance de 20 μ ($\times 500$) et sont centrés sur la base

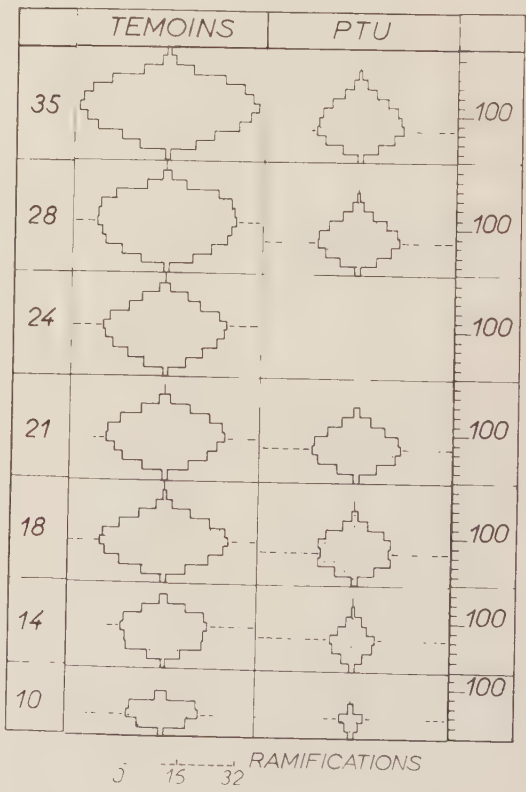
de la dendrite primaire. On a compté le nombre de prolongements dendritiques coupant chaque cercle. Les résultats sont indiqués dans le tableau de droite.

FIG. 56.

Evolution de la silhouette moyenne de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje selon l'âge des animaux et le traitement subi.

- En haut, traitement.
- A gauche, âge (en jours).
- A droite, distance en μ à partir de la base de la dendrite primaire.

Pour une distance donnée à partir de la base de la dendrite primaire (traits pleins horizontaux), la largeur du tracé est proportionnelle à la moyenne des numérations faites sur les cellules, selon les indications fournies par la figure 55. Les traits de rappel discontinus marquent la distance où se rencontre le maximum de ramifications dans la zone moléculaire.



4° CONCLUSIONS

Chez l'animal rendu hypothyroïdien dès la naissance, des modifications importantes affectent la maturation histologique de toutes les couches du cortex cérébelleux :

1° La migration des grains à travers la zone moléculaire est retardée. La couche granulaire externe persiste au-delà du délai normal de 21 jours; il s'agit d'une persistance transitoire, la couche finissant par disparaître d'elle-même chez l'animal athyroïdien. L'importance du retard de migration est de l'ordre d'une semaine. La mise en place des éléments de l'écorce cérébelleuse ne se termine que vers 35 jours.

2° Les péricaryons des cellules de Purkinje ne se disposent par parfaitement selon une seule assise comme chez les témoins, et restent plus ou moins enfoncés dans la couche des grains. Ils n'ont pas encore acquis leur aspect adulte à 14 jours.

3° Les glomérules cérébelleux n'apparaissent qu'après un retard de plusieurs jours. Ultérieurement, le développement de ces structures semble anormal.

4° Le développement de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje est caractérisé par un retard de l'ordre d'une semaine dans l'acquisition de l'organisation définitive de la base et par une diminution considérable du nombre des prolongements dendritiques qui persiste à 35 jours.

V. — CORRECTION DU CRÉTINISME EXPÉRIMENTAL
ET DES TROUBLES DU DÉVELOPPEMENT DU CERVELET
PAR LA THYROXINE

Dans plusieurs portées d'animaux dont la mère recevait du PTU, les jeunes ont été injectés quotidiennement de thyroxine (DL-thyroxine en solution, par voie sous-cutanée, à raison de 2 µg/jour pendant la première semaine post-natale, 4 µg/jour pendant la deuxième semaine post-natale et 6 µg/jour ensuite) et ont été sacrifiés à 7, 14, 18 et 21 jours (tableau VI). Les doses d'hormone employées tiennent très grossièrement compte de

l'évolution du poids des animaux; ceux-ci ont un poids normal au sacrifice. Ils n'ont pas développé les signes du crétinisme expérimental; ils ont présenté, au contraire, des signes de maturation accélérée (ouverture des yeux avant le quatorzième jour, affinement du museau et déplissement du pavillon des oreilles plus précoces; activité locomotrice plus importante que celle des témoins pendant la deuxième semaine post-natale).

TABLEAU VI. — ANIMAUX TRAITÉS PAR LE PTU
AYANT REÇU UNE INJECTION QUOTIDIENNE DE THYROXINE DEPUIS LE JOUR DE LA NAISSANCE

Age au sacrifice (jours)	Nombre total d'animaux	Poids (g)	Nombre de cervelets étudiés selon l'une des techniques suivantes	
			Paraffine	Cryostat
7	4	10-13,5	2	2
14	2	18,7 et 19,4	1	1
18	2	25,3 et 28,2	1	1
21	2	35,2 et 37,4	1	1

Les cervelets ont été étudiés sur coupes à la paraffine et au cryostat. A 7 jours, aucune différence n'a été notée dans l'organisation du cortex cérébelleux par rapport aux témoins. Dans le cervelet des deux animaux étudiés à 14 jours, la couche de grains externes est moins épaisse que chez les témoins de même âge; la zone moléculaire est plus développée, sa réaction succinodéshydrogénasique très diffuse prouve que les arborisations dendritiques des cellules de Purkinje sont déjà très ramifiées; dans la couche granulaire interne, les glomérules cérébelleux sont partout bien développés (fig. 38). A 18 jours, la couche de grains externes est très mince. Enfin, dans le cervelet des deux animaux étudiés à 21 jours, la couche des grains externes a disparu.

Le développement de la ramure dendritique des cellules de Purkinje n'a pas été étudié sur préparations Golgi-Cox, mais des expériences rapportées ailleurs (LEGRAND, 1967) montrent qu'il est normal ou légèrement accéléré chez des animaux hypothyroïdiens recevant de la

thyroxine pendant la première ou la deuxième semaine post-natale uniquement.

Ainsi, aux doses employées, la thyroxine a non seulement corrigé toutes les anomalies observées dans le cervelet des animaux recevant du PTU, mais accéléré la maturation du cortex cérébelleux par rapport aux témoins. Les quantités d'hormone administrées dépassent donc probablement les quantités normales d'hormone sécrétées par la thyroïde.

De même, chez les animaux radiothyroïdectomisés à la naissance, l'injection intrapéritonéale de 3 ou 4 doses de 30 μ g de DL-thyroxine, entre 9 et 18 jours (LEGRAND, KRIEGEL et JOST, 1961), ou de 10 μ g de DL-thyroxine tous les 2 jours, à partir d'un âge compris entre 6 et 12 jours (LEGRAND, 1963), a empêché l'apparition des signes du crétinisme expérimental. Ces animaux ont tous été sacrifiés à 21 jours et leur cervelet étudié uniquement sur coupes à la paraffine. La couche des grains externes avait toujours normalement disparu.

VI. — DISCUSSION

La mise en évidence de modifications dans le développement du cervelet chez le jeune Rat hypothyroïdien permet de poser le problème de l'existence d'une action spécifique des hormones thyroïdiennes sur le développement du système nerveux des Mammifères. Plusieurs points méritent d'être discutés. Nous les envisagerons successivement.

Dans la mesure où les anomalies du développement du cervelet s'observent aussi bien après l'administration d'anti-thyroïdien, l'injection de radio-iode ou

l'ablation chirurgicale de la thyroïde, il semble que la thyroïde soit en cause dans les modifications observées. Les observations faites chez les animaux hypothyroïdiens ayant reçu de la thyroxine confirment que l'effet toxique de l'antithyroïdien ou les radiations de l'iode ne sont pas responsables des anomalies observées au niveau du cervelet et que l'hypothyroïdisme est seul en cause. Mais le problème est de savoir si l'hypothyroïdisme affecte le développement du cervelet dans les mêmes propor-

tions qu'il retarde la croissance pondérale des animaux. De ce point de vue (cf. LEGRAND, KRIEGEL et JOST, 1961; LEGRAND, 1964), on retiendra tout d'abord que, chez l'animal hypothyroïdien, la croissance pondérale de l'encéphale est relativement moins diminuée que celle du corps (EAYRS et TAYLOR, 1951; EAYRS, 1961). Il existe, d'autre part, une indépendance très grande entre le poids atteint par l'animal au moment du sacrifice et l'état de son cervelet; il existe, par contre, un parallélisme très net entre l'intensité des signes du crétinisme expérimental et l'apparition des modifications de la maturation histologique du cervelet. Chez les animaux très gros, mais d'aspect crétinoïde, le degré de développement du cervelet est très différent de celui des témoins; chez les animaux petits, ayant manifestement souffert d'une sous-alimentation mais conservant des restes thyroïdiens et ne développant pas les signes du crétinisme d'une façon importante, le degré de maturation du cervelet est sensiblement normal. D'autre part, chez l'animal hypothyroïdien, la couche des grains externes finit par disparaître sans que le poids du corps augmente. Enfin, puisque chez le jeune Rat ayant sa thyroïde mais souffrant d'une dénutrition sévère, la maturation histologique du cervelet n'est pas sensiblement affectée, il semble que les anomalies du développement du cervelet, comme les autres anomalies qui caractérisent le crétinisme expérimental, soient dues à l'absence d'une action spécifique des hormones thyroïdiennes, en partie au moins indépendante de leur action sur la croissance pondérale.

Jusqu'à maintenant, nous n'avons pu observer, dans le développement du cervelet des animaux hypothyroïdiens, que des modifications tardives, décelables

après l'âge de 8-10 jours. Il se peut que les techniques histologiques employées soient insuffisantes pour étudier correctement la structure du cervelet des animaux plus jeunes. Quelques remarques doivent être cependant faites ici.

1° La fissuration et la lobulation du cervelet, processus qui s'achèvent normalement vers l'âge de 10 jours, sont peu affectées.

2° Au début de la période étudiée (entre 8 et 10 jours), la couche de grains externes est aussi épaisse chez les animaux hypothyroïdiens que chez les témoins. On commence à noter des différences dans le développement des dendrites des cellules de Purkinje.

3° A partir de l'âge de 10 jours, on observe un retard dans la migration des grains externes, des anomalies dans la position et la différenciation des cellules de Purkinje, en particulier un retard considérable dans le développement de leur arborisation dendritique.

4° A l'âge de 14 jours, les modifications sont particulièrement nettes tant au niveau de la couche des grains externes que de celui des cellules de Purkinje (péricaryon et prolongements). En plus, des anomalies au niveau de la couche granulaire interne sont apparues.

Ainsi, les anomalies de la maturation histologique du cervelet apparaissent après une semaine environ d'hypothyroïdisme post-natal; rappelons qu'il en est de même en ce qui concerne le retard de maturation squelettique et la manifestation des signes extérieurs du crétinisme expérimental. La déficience thyroïdienne retentit sur l'achèvement du cervelet et non sur les premiers stades de son développement. Elle affecte les cellules de Purkinje au moment où celles-ci devraient normalement acquérir leurs caractéristiques de neurones adultes.

C'est en ce sens qu'on peut parler d'une action morphogénétique des hormones thyroïdiennes dans la maturation du cervelet.

Les travaux de EAYRS et de ses collaborateurs (revue dans EAYRS, 1966) ont montré des faits comparables dans le cortex cérébral, lequel présente, comme le cortex cérébelleux, une maturation tardive. L'hypothyroïdisme n'empêche pas l'établissement de la stratification normale du cortex cérébral. Il affecte, par contre, la maturation des neurones pyramidaux dont on sait que, normalement, elle se déroule en même temps que celle des cellules de Purkinje, pendant la deuxième semaine post-natale.

L'action morphogénétique des hormones thyroïdiennes sur le système nerveux est ainsi beaucoup plus discrète chez les Mammifères que chez les Amphibiens (cf. TUSQUES, 1956).

La persistance de la couche de grains externes au-delà du délai normal de 21 jours, le retard dans l'acquisition des caractères morphologiques définitifs du péricaryon des cellules de Purkinje et de la base de leur arborisation dendritique, le retard dans l'apparition des glomérules cérébelleux sont des anomalies transitoires qui signent un retard évolutif. Avec un retard de quelques jours, les glomérules cérébelleux apparaissent et les péricaryons des cellules de Purkinje acquièrent une morphologie normale ; avec un retard de l'ordre d'une semaine, la base de leur arborisation dendritique présente également une organisation normale ; la couche des grains externes finit par disparaître chez l'animal athyroïdien (avec un retard de l'ordre d'une semaine également). En ce qui concerne ce genre d'anomalies, l'image histologique rencontrée chez l'animal hypothyroïdien est

celle qui caractérise un animal normal mais plus jeune.

L'hypoplasie de l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje, de même que les anomalies du développement des glomérules cérébelleux, persistent par contre pendant toute la période étudiée. Si l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje finit par acquérir à sa base une morphologie normale, son développement complet semble ne pas pouvoir être conduit à son terme normal en l'absence complète d'hormones thyroïdiennes. Dans le cortex cérébral, les anomalies du développement des axones et des dendrites persistent également au moins jusqu'à l'âge de 2 mois (EAYRS, 1955; EAYRS et HORN, 1955). A la suite de telles remarques, on peut poser la question de savoir si la croissance et la ramification des prolongements cellulaires sont affectées de manière spécifique dans l'hypothyroïdisme. Quelques faits méritent d'être soulignés ici, qui permettront d'éclairer ce problème : 1° Le retard de maturation des cellules de Purkinje précède le retard de la migration des grains externes. C'est ainsi qu'avant 10 jours on note déjà des différences dans le développement des dendrites ; par contre, le retard de la migration des grains n'est pas visible. 2° La croissance des fibres moussues, d'origine extra-cérébelleuse, et des autres prolongements cellulaires qui participent à la formation des glomérules cérébelleux, semble également affectée. 3° Dans le cortex cérébral, l'hypothyroïdisme ne peut retentir que sur la différenciation des neurones dont la mise en place est achevée, en particulier sur le développement de leurs prolongements (EAYRS, 1966). En effet, si l'histogenèse du cortex cérébral est marquée par des mouvements cellulaires importants, les mou-

vements sont pratiquement terminés à la naissance (cf. BERRY et ROGERS, 1965). 4° Enfin, dans le cortex cérébral et probablement dans tout le névraxe, les neuroblastes ne se déplacent pas en masse; leur migration paraît nécessiter la présence d'un support anatomique sous la forme des prolongements des cellules (cf. BERRY et ROGERS, 1965). Il est possible que dans le cortex cérébelleux, comme dans le cortex cérébral, la différenciation des neuroblastes, en particulier la croissance et la ramification de leurs prolongements cellulaires, soit affectée et que dans le cervelet cette anomalie ait pour conséquence un ralentissement de la migration des grains. Malheureusement, dans les préparations Golgi-Cox, les grains ne sont pas imprégnés et leurs prolongements ne peuvent être étudiés.

Il est intéressant de remarquer que l'arborisation dendritique des cellules de Purkinje reste très fortement hypoplasique quand la couche des grains externes a disparu et lorsque la migration de ces grains est apparemment terminée (à 35 jours). L'image histologique de l'ensemble du cortex cérébelleux, rencontrée alors chez l'animal hypothyroïdien, ne peut plus être retrouvée chez aucun témoin, quel que soit son âge, et les modifications ne peuvent plus être interprétées comme un retard évolutif uniquement.

L'hypothyroïdisme affecte ainsi, à des degrés différents, les deux processus qui marquent la maturation de la zone moléculaire, développement des dendrites et migration des grains; il introduit une dissociation chronologique dans leur déroulement. MIALE et SIDMAN (1961) ont étudié l'histogenèse du cervelet de Souris normales par des techniques autoradiographiques, en marquant les noyaux par la thymidine tritiée. Dans la discussion de leurs résultats, ils suggèrent que

les contacts synaptiques entre les dendrites des cellules de Purkinje et les axones des grains puissent s'établir et se multiplier lorsque les grains immatures traversent la zone moléculaire. Dans le cortex cérébral, selon EAYRS (1960), les anomalies du développement des axones et des dendrites entraînent une diminution importante de la probabilité d'établissement des contacts synaptiques. L'hypoplasie considérable du champ dendritique dans la zone moléculaire du cervelet doit également s'accompagner d'une diminution importante du nombre des épines des dendrites, et par suite des synapses axodendritiques, et modifier les caractères d'excitabilité des cellules de Purkinje. Quoi qu'il en soit, si l'hypothèse émise par MIALE et SIDMAN est exacte, les anomalies de la migration des grains et du développement des dendrites des cellules de Purkinje pourraient s'accompagner d'anomalies dans l'établissement de la texture synaptique normale de la zone moléculaire. Enfin, dans la mesure où les deux processus ne sont pas affectés au même degré dans l'hypothyroïdisme, on peut imaginer que les troubles de l'établissement des circuits nerveux normaux intracérébelleux puissent devenir irréversibles, c'est-à-dire ne puissent plus être corrigés par l'administration tardive d'hormone thyroïdienne.

La thyroïde fonctionne chez le rat nouveau-né; les hormones thyroïdiennes pénètrent, d'autre part, dans le cerveau (FORD et GROSS, 1958 *a* et *b*; PETERSON et coll., 1966). On peut se demander si l'action des hormones thyroïdiennes sur le système nerveux est directe ou indirecte. Nous avons vu que les répercussions de l'hypothyroïdisme sur le cervelet ne peuvent s'expliquer par le ralentissement de la croissance du corps et qu'en ce sens elles sont spécifiques. Mais

elles pourraient être secondaires à une augmentation de la pression intracrânienne, suggérée par les modifications de la forme du crâne et de l'encéphale, mais qui reste à démontrer, ou à une diminution de la vascularisation cérébrale (EAYRS, 1954) entraînant une diminution de l'apport d'oxygène aux tissus. Il est possible que de tels facteurs jouent un rôle dans l'établissement des anomalies de l'encéphale chez l'animal hypothyroïdien. Mais ils ne peuvent expliquer l'accélération de la maturation du comportement (HAMBURGH, 1958; EAYRS, 1964) ou l'accélération de la maturation histologique du cortex cérébelleux après

injection d'hormone thyroïdienne au nouveau-né normal (TUSQUES, 1956) et après injection d'un excès d'hormone à l'animal soumis au PTU. Les recherches de HAMBURGH et BUNGE (1964) et HAMBURGH (1966) sur des cultures de cervelet de rat nouveau-né démontrent une action de la thyroxine *in vitro* sur la maturation des neurones. Il existe donc de bonnes raisons de penser que les hormones thyroïdiennes exercent une action morphogénétique directe sur le système nerveux des Mammifères, comme elles en exercent une sur le système nerveux des Amphibiens (KOLLROS, 1943, 1957, 1958; KOLLROS et McMURRAY, 1951; PESETSKY, 1962).

RÉSUMÉ

Chez le jeune Rat normal, la couche granulaire externe du cervelet a disparu à 21 jours *post-partum*. La migration de ses éléments se termine à la fin de la quatrième semaine post-natale. Le cortex cérébelleux du Rat âgé de 35 jours présente la structure du cortex adulte. Les péricaryons des cellules de Purkinje commencent à présenter leurs caractéristiques morphologiques définitives à l'âge de 10 jours; l'organisation définitive de la base de leur arborisation dendritique est déjà réalisée au même âge. A la fin de la deuxième semaine post-natale (animaux de 13 et 14 jours), tous les corps cellulaires présentent l'aspect adulte et les glomérules cérébelleux sont bien différenciés dans la couche granulaire interne.

Chez l'animal rendu hypothyroïdien en fin de gestation ou à la naissance (par administration de PTU, par radiothyroïdectomie ou par ablation chirurgicale de la thyroïde), la migration des grains externes est retardée après l'âge de 10 jours. La couche granulaire externe persiste encore à 28 jours; la mise en place des éléments de l'écorce cérébelleuse ne se termine que vers 35 jours, c'est-à-dire avec une semaine de retard. A 14 jours, les péricaryons des cellules de Purkinje conser-

vent un aspect immature, l'organisation définitive de la base de leur arborisation dendritique n'est pas encore acquise et les glomérules cérébelleux sont absents. Les glomérules n'apparaissent que vers 18-21 jours; leur développement ultérieur semble anormal. La base de la ramure dendritique des cellules de Purkinje a acquis une organisation normale à 18 jours, mais l'arborisation reste fortement hypoplasique, même à 35 jours, lorsque la mise en place des éléments de l'écorce est terminée.

Ainsi, à côté de troubles transitoires qui s'apparentent à de simples retards évolutifs (retard dans la migration des grains et dans la différenciation des péricaryons des cellules de Purkinje par exemple), des anomalies persistantes affectent la croissance et la ramification des prolongements cellulaires, se traduisant probablement en définitive par une diminution du nombre de synapses et par des modifications de la texture synaptique. Le déroulement de la maturation histologique de l'ensemble du cortex cérébelleux est finalement modifié.

Les différences s'observent pour la première fois au début de la deuxième semaine post-natale, c'est-à-dire au moment où les cellules de Purkinje commencent à acquérir leur

aspect adulte. Elles ne peuvent être attribuées à une sous-alimentation des animaux, car la dénutrition sévère des jeunes n'entraîne pas de modification dans l'évolution de la couche des grains externes ni de retard sensible dans la différenciation des cellules de Purkinje.

L'administration de thyroxine, depuis la naissance jusqu'au sacrifice, corrige toutes les anomalies de la maturation histologique

du cervelet chez l'animal hypothyroïdien. Un excès d'hormone entraîne une légère accélération de la maturation.

Certains au moins des changements structuraux qui caractérisent la maturation du cortex cérébelleux nécessitent la présence d'hormone thyroïdienne. Les résultats mettent donc en évidence une action morphogénétique des hormones thyroïdiennes sur le système nerveux des Mammifères.

SUMMARY

In normal young rats, the fetal layer of external granule cells has completely disappeared in the cerebellum at 21 days *post-partum*. Histogenesis of the cerebellar cortex is effective at about the end of the 4th postnatal week. At 35 days, the structure of the cerebellar cortex is that of the adult.

In the cerebellum of rats made hypothyroid (by PTU, radio- or surgical thyroidectomy) at the end of gestation or immediately following birth, the outer granular layer still persists in 28 day-old animals. It appears that the migration of external granule cells towards inner layers of the cerebellar cortex is transitorily delayed until the end of the 5th postnatal week.

In 8-10 day-old normal animals, the dendrites of the Purkinje cells become arranged in one plane. Quantitative histological studies show that the mature organization of the basis of the dendritic arborization is already effective at 10 days. At 13-14 days, the perikarya of the Purkinje cells appear mature; Nissl granules are present all over the cytoplasm; cerebellar glomeruli are also found everywhere within the inner granular layer.

In hypothyroid animals, the mature condition of the basis of the dendritic tree is not observed until they are 18 days old. The perikarya of the Purkinje cells still have a fetal appearance at 14 days. Cerebellar glomeruli appear several days later than the normal. Their ulterior development seems to be abnormal. The dendritic spread of the

Purkinje cells remains hypoplastic during the whole period studied, even at 35 days when the migration of granule cells is finished.

Beside transitory troubles such as a delayed migration of granule cells and a retarded differentiation of Purkinje cell bodies, most persistent abnormalities which are concerned with growth and branching of cell processes are found. In this way, hypothyroidism may reduce the number of synaptic relations and alter the organization of the synaptic field. It appears that the histological maturation of the whole cerebellar cortex is finally modified.

Abnormalities are first seen when the Purkinje cells take on an adult appearance (beginning of the second postnatal week). They do not depend of the weight of the animal. They cannot be attributed to a malnutrition of the young because inanition is accompanied neither by a delay in the granule cell migration nor by a marked retardation in the Purkinje cell differentiation.

Thyroxine, when given to hypothyroid animals from birth to sacrifice is successful in correcting all the developmental abnormalities of the cerebellum. Excessive doses of hormone lead to an accelerated maturation of the cerebellar cortex.

The influence of thyroid hormones therefore is necessary for some of the structural changes associated with cerebellar cortex maturation. These results confirm a specific action of the thyroid hormones on the maturation of the nervous system in Mammals.

BIBLIOGRAPHIE

- ADDISON (W. H.), 1911. — The development of the Purkinje cells and of the cortical layers in the cerebellum of the albino rat. *J. comp. Neurol.*, **21**, 459-488.
- ASLING (C. W.) and EVANS (E. S.), 1963. — Maintenance of skeletal growth and maturation in thyroidectomized rats by injection of iodide. *Endocrinology*, **72**, 283-291.
- BARNETT (R. J.), 1948. — Some aspects of the physiology of the experimental cretin-like animal. Thesis, Yale Univ. School of Medicine (Dactylographiée, 145 pages).
- 1950. — Experimental production of cretin-like rats. *Yale J. Biol. Med.*, **22**, 313-322.
- BERRY (M.) and ROGERS (A. W.), 1965. — The migration of neuroblasts in the developing cerebral cortex. *J. Anat.*, **99**, 691-709.
- BRIZZEE (K. R.) and JACOBS (L. A.), 1959. — Early postnatal changes in neuron packing density and volumetric relationships in the cerebral cortex of the white rat. *Growth*, **23**, 337-347.
- CAPANNA (E.), 1960 a. — Alcune osservazioni sulla morfogenesi cerebellare nel ratto. *Rend. Accad. Nazionale dei Lincei (serie 8)*, **28**, 727-730.
- 1960 b. — Osservazioni sulla densità mitotica e l'accrescimento della corteccia cerebellare durante la morfogenesi nel Ratto albino. *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, **65**, 250-268.
- DADOUNE (J. P.), 1966. — Contribution à l'étude de la différenciation de la cellule de Purkinje et du cortex cérébelleux chez le Rat blanc. *Arch. Anat. Histol. Embryol. norm. et exp.*, **49**, 383-393.
- DAVISON (A. N.) and DOBBING (J.), 1966. — Myelination as a vulnerable period in brain development. *Brit. Med. Bull.*, **22**, 40-44.
- DOBBING (J.), 1966. — The effect of undernutrition on myelination in the central nervous system. *Biol. Neonat.*, **9**, 132-147.
- EAYRS (J. T.), 1954. — The vascularity of the cerebral cortex in normal and cretinous rats. *J. Anat.*, **88**, 164-173.
- 1955. — The cerebral cortex of normal and hypothyroid rats. *Acta Anatomica*, **25**, 160-183.
- 1960. — Functional correlates of modified cortical structure. In « Structure and function of the cerebral cortex ». Ed. by Tower (D. B.) and Shade (J. P.), Elsevier, 1960. Pages 43-50.
- 1961. — Protein anabolism as a factor ameliorating the effects of early thyroid deficiency. *Growth*, **25**, 175-189.
- 1964. — Effect of neonatal hyperthyroidism on maturation and learning in the rat. *Anim. Behav.*, **12**, 195-199.
- 1966. — Thyroid and central nervous development. *Sci. Basis Med. Annu. Rev., G. B.*, 317-339.
- EAYRS (J. T.) and GOODHEAD (B.), 1959. — Postnatal development of the cerebral cortex in the rat. *J. Anat.*, **93**, 385-402.
- EAYRS (J. T.) and HORN (G.), 1955. — The development of cerebral cortex in hypothyroid and starved rats. *Anat. Rec.*, **121**, 53-61.
- EAYRS (J. T.) and TAYLOR (S. H.), 1951. — The effect of thyroid deficiency induced by methylthiouracil on the maturation of the central nervous system. *J. Anat.*, **85**, 350-358.
- EVANS (E. S.), ROSENBERG (L. L.) and SIMPSON (M. E.), 1960. — Relative sensitivity of different biological responses to thyroxine. *Endocrinology*, **66**, 433-440.
- FLORSHEIM (W. M.), FAIRCLOTH (M. A.), CORCORAN (N. L.) and RUDKO (P.), 1966. — Perinatal thyroid function in the rat. *Acta Endocr.*, **52**, 375-382.
- FORD (D. H.) and GROSS (J.), 1958 a. — The metabolism of ¹³¹I-labelled thyroid hormones in the hypophysis and brain of the rabbit. *Endocrinology*, **62**, 416-436.
- 1958 b. — The localization of ¹³¹I-labelled triiodothyronine and thyroxine in the pituitary and brain of the male guinea-pig. *Endocrinology*, **63**, 549-560.
- FOX (C. A.) and BARNARD (J. W.), 1957. — A quantitative study of the Purkinje cell dendritic branchlets and their relationship to afferent fibers. *J. Anat.*, **91**, 299-313.
- FUJITA (S.), SHIMADA (M.) and NAKAMURA (T.), 1966. — ³H-thymidine autoradiographic studies on the cell proliferation and differentiation in the external and the internal granular layers of the mouse cerebellum. *J. comp. Neur.*, **128**, 191-208.
- GOLDBERG (R. C.) and CHAIKOFF (I. L.), 1949. — A simplified procedure for thyroidectomy of the new-born rat without concomitant parathyroidectomy. *Endocrinology*, **45**, 64-70.
- GORBMAN (A.) and EVANS (H. M.), 1943. — The time of beginning function in the thyroid gland of fetal rats. *Endocrinology*, **32**, 113-115.
- GRAY (E. G.), 1961. — The granule cells, mossy synapses and Purkinje spine synapses of the cerebellum: light and electron microscope observations. *J. Anat.*, **95**, 345-356.

- HAMBURGH (M.), 1958. — Effects of thyroid hormone on the maturation of the central nervous system. *Amer. J. Dis. Child.*, **96**, 521-522.
- 1966. — Evidence for a direct effect of temperature and thyroid hormone on myelinogenesis *in vitro*. *Develop. Biol.*, **13**, 15-30.
- HAMBURGH (M.) and BUNGE (R. P.), 1964. — Evidence for a direct effect of thyroid hormone on maturation of nervous tissue grown *in vitro*. *Life Sc.*, **3**, 1423-1440.
- HAMBURGH (M.), LYNN (E.) and WEISS (E. P.), 1964. — Analysis of the influence of thyroid hormone on prenatal and postnatal maturation of the rat. *Anat. Rec.*, **150**, 147-162.
- HUGHES (A. A.), 1944. — Cretinism in rats induced by thiouracil. *Endocrinology*, **34**, 69-76.
- JOST (A.), 1954. — Hormonal factors in the development of the foetus. *Cold Spring Harb. Symposia Quant. Biol.*, **19**, 167-181.
- 1957. — Le problème des interrelations thyroïdo-hypophysaires chez le fœtus et l'action du propylthiouracile sur la thyroïde fœtale du Rat. *Rev. Suisse Zool.*, **64**, 821-834.
- KOLLROS (J. J.), 1943. — Experimental studies on development of corneal reflex in Amphibia. II. Localized maturation of reflex mechanism effected by thyroxine-agar implants into the hind-brain. *Physiol. Zool.*, **16**, 269.
- 1957. — Influence of thiourea on growth of cells in the midbrain of frogs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **95**, 138-141.
- 1958. — Hormonal control of onset of corneal reflex in the frog. *Science*, **128**, 1505.
- KOLLROS (J. J.) and McMURRAY (V. M.), 1956. — The mesencephalic V nucleus in Anurans. II. The influence of thyroid hormone on cell size and cell number. *J. Exptl. Zool.*, **131**, 1-26.
- LEGRAND (J.), 1963. — Maturation du cervelet et déficience thyroïdienne : données chronologiques. *Arch. Anat. micr. Morphol. exp.*, **52**, 205-214.
- 1964. — La maturation du cervelet chez le Rat blanc hypothyroïdien. In « Regional development of the brain in early life ». Ed. by Minkowski (A.), Blackwell Scientific Publications, 1967. Pages 485-493.
- 1965. — Influence de l'hypothyroïdisme sur la maturation du cortex cérébelleux. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **261**, 544-547.
- 1967. — Variations, en fonction de l'âge, de la réponse du cervelet à l'action morphogénétique de la thyroïde chez le Rat. *Arch. Anat. micr. Morphol. exp.* (à paraître).
- LEGRAND (J.), KRIEGLER (A.) et JOST (A.), 1961. — Déficience thyroïdienne et maturation du cervelet chez le Rat blanc. *Arch. Anat. micr. Morphol. exp.*, **50**, 507-520.
- LISON (L.). — Histochimie et Cytochimie animales. 3^e éd. Vol. II. Gauthier - Villars, Paris, 1960.
- MARTIN (R.), 1962. — Entwicklungszeiten des Zentralnervensystems von Nagern mit Nesthocker- und Nestflüchterontogenese (*Cavia cobaya* Schreb. und *Rattus norvegicus* Erxleben). *Rev. Suisse Zool.*, **69**, 617-727.
- MIALE (I. L.) and SIDMAN (R. L.), 1961. — An autoradiographic analysis of histogenesis in mouse cerebellum. *Exp. Neurol.*, **4**, 277-296.
- PESETSKY (I.), 1962. — The thyroxine-stimulated enlargement of Mauthner's neuron in Anurans. *Gen. Comp. Endocr.*, **2**, 229-235.
- PETERSON (N. A.), NATAF (B. M.), CHAIKOFF (I. L.) and RAGUPATHY (E.), 1966. — Uptake of injected ¹³¹I-labelled thyroxine, triiodothyronine and iodide by rat brain during various stages of development. *J. Neurochem.*, **13**, 933-943.
- PREMACHANDRA (B. N.), 1963. — Thyroxine secretion rate in the rat. *Fed. Proc.*, **22**, 521 (Abstract).
- PURPURA (D. P.), SHOFRER (R. J.), HOUSEPIAN (E. M.) and NOBACK (C. R.), 1964. — Comparative ontogenesis of structure-function relations in cerebral and cerebellar cortex. In « Growth and maturation of the brain ». Ed. by Purpura (D. P.) and Shade (J. P.), Elsevier, 1964. Pages 187-221.
- RAAF (J.) and KERNOHAN (J. W.), 1944. — A study of the external granular layer in the cerebellum. *Am. J. Anat.*, **75**, 151-172.
- SALMON (T. N.), 1936. — Effect of thyro-parathyroidectomy in new-born rats. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **35**, 489-491.
- 1938. — The effect on the growth rate of thyro-parathyroidectomy in new-born rats and of the subsequent administration of thyroid, parathyroid and anterior hypophysis. *Endocrinology*, **23**, 446-457.
- SCOW (R. O.) and SIMPSON (M. E.), 1945. — Thyroidectomy in the new-born rat. *Anat. Rec.*, **91**, 209-226.
- SCOW (R. O.), SIMPSON (M. E.), ASLING (C. W.), LI (C. H.) and EVANS (H. M.), 1949. — Response by the rat thyro-parathyroidectomized at birth to growth hormone and to thyroxine given separately or in combination. I. General growth and organ changes. *Anat. Rec.*, **104**, 445-463.
- SERENI (F.), PRINCIPI (N.), PERLETTI (L.) and SERENI (L. P.), 1966. — Undernutrition and the developing rat brain. *Biol. Neonat.*, **10**, 254-263.

- SHINONAGA (Y.), 1965. — Histochemical and cytochemical studies on the succinic dehydrogenase in the developing cerebellum. *Arch. histol. jap.*, **25**, 467-490.
- SOTELO (C.) et WEGMANN (R.), 1962. — Aspects enzymo-histochimiques des glomérules cérébelleux. Corrélation entre leur structure, leur fonction et la production d'énergie. *Ann. Histochem.*, **7**, 105-110.
- SPEERT (H.), QUIMBY (E. H.) and WERNER S. C.), 1956. — Radioiodine uptake by the fetal mouse thyroid and resultant effects in later life. *Surgery, Gynecol. and Obstet.*, **93**, 230-242.
- SUGITA (N.), 1918. — Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. *J. comp. Neur.*, **29**, 119-162.
- TEWARI (H. B.) and BOURNE (G. H.), 1962. — Histochemical studies on the distribution of oxidative enzymes in the cerebellum of the rat. *J. Histochem. Cytochem.*, **10**, 619-627.
- TUSQUES (J.), 1956. — Recherches expérimentales sur le rôle de la thyroïde dans le développement du système nerveux. *Biologie médicale*, **45**, 395-413.
- UZMAN (L. L.), 1960. — The histogenesis of the mouse cerebellum as studied by its-tritiated thymidine uptake. *J. comp. Neur.*, **114**, 137-159.
- WEGMANN (R.) et SOTELO (C.), 1962. — Aspects cyto-enzymatiques du métabolisme des glucides de la cellule de Purkinje. *Ann. Histochem.*, **7**, 65-81.
-

**ARCHIVES
D'ANATOMIE MICROSCOPIQUE
ET DE
MORPHOLOGIE EXPÉRIMENTALE**

COMITÉ DE RÉDACTION :

M. AVEL (BORDEAUX), J. BENOIT (PARIS),
R. COURRIER (PARIS),
R. COUTEAUX (PARIS),
E. FAURÉ-FREMIET (PARIS),
A. LACASSAGNE (PARIS),
J. TURCHINI (MONTPELLIER),
ET. WOLFF (PARIS).

SECRÉTAIRE DE RÉDACTION :

A. JOST (PARIS).

CONDITIONS DE PUBLICATION

Les **Archives d'Anatomie microscopique** paraissent quatre fois par an, par fascicule de 80 à 96 pages avec de nombreuses figures et planches hors texte.

ABONNEMENT ANNUEL (1968)

France et Zone franc F 80

ÉTRANGER :

Belgique et Luxembourg Fr. B. 1.071,50

Italie Lires 12.660

Autres pays F 100

également payables dans les autres monnaies, au cours
des règlements commerciaux du jour du paiement

Les règlements venant de l'étranger peuvent être faits par
l'une des voies suivantes :

- a) Chèque sur Paris d'une banque officielle.
- b) Virement par banque sur compte étranger.
- c) Mandat international.

MASSON & Cie, ÉDITEURS, 120, Bd St-Germain, PARIS (6^e)

PRINTED IN FRANCE